THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

589.05
CE
~~Ser. 2a~~, v. 100

NATURAL
HISTORY
BIOLO

Return this book on or before the **Latest Date** stamped below. A charge is made on all overdue books.

U. of I. Library

APR 29 1959

M32

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh. Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden
und
Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 100. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 27 Abbildungen, 6 Tabellen im Text und 16 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1926

589.05 NHL
CE

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 100. Heft 1/3.

V.100

Ausgegeben am 8. Oktober 1926.

Nachdruck verboten.

Das Ektoplasma der Bakterien.

5. Mitteilung: Färberischer Nachweis und chemischer Bau des Ektoplasmas der gramnegativen Bakterien[1]).

[Aus der Parasitologischen und Vergleichend-pathologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin (Dir.: Geheimrat Lubarsch).]

Von Dr. med. **M. Gutstein.**

Mit 1 Tafel.

Während über das Vorhandensein einer äußeren Hülle bei den grampositiven Bakterien einige in der 1. Mitteilung (1) kurz angeführte Versuche und Darstellungsmethoden bekannt gewesen sind, ist bezüglich der kleinen gramnegativen Mikroben, soweit ich die Literatur übersehe, der Nachweis der Membran bisher noch nie gelungen. Man könnte also zu der Anschauung gelangen, daß die Gramnegativen überhaupt kein Ektoplasma besäßen, insbesondere da die in der 1. Mitteilung beschriebene Tanninmethode hier nicht zum Ziel geführt hat. Vgl. 2. Mitteilung (2).

Es war jedoch für mich von vornherein klar, daß auch die gramnegativen Bakterien schon aus rein theoretischen Gründen einer äußeren Schutzhülle in Form einer anatomischen Membran nicht entbehren könnten. Die Versuche, die Membran dieser winzigen Stäbchen färberisch isoliert sichtbar zu machen, schien jedoch längere Zeit keine überzeugenden Befunde zu ermöglichen. Nach vielen vergeblichen Versuchen fand ich schließlich, daß die isolierte Darstellung des Ektoplasmas der gramnegativen Bakterien ebenfalls mittels einer Tanninbeize sicher gelingt, und zwar, wenn man die Bakterienausstriche mit einer konzentrierten Tanninlösung (30proz.) mehrere Min. lang bei gewöhnlicher Temperatur behandelt und nach Wasserspülung mit gewissen basischen Farbstoffen nachfärbt. Im Gegensatz zu den grampositiven Bakterien gelingt es hier trotz Anwendung einer konzentrierten Beize nicht, mit allen basischen Farbstoffen eine einwandfreie Färbung des Ektoplasmas zu erzielen. Sichere Resultate erhält man bei den negativen Arten vorzugsweise mit einigen basischen Farbstoffen, nämlich Methylviolett, Safranin, Fuchsin, Methylenblau und Methylenblau 2 B extra. Zu bemerken wäre noch, daß die einzelnen Kokken und Stäbchen der Gramnegativen hinsichtlich der leichteren oder schwereren Darstellbarkeit ihres Ektoplasmas gewisse Differenzen aufweisen, die vielleicht mit der Dicke der Membran zusammenhängen könnten. So ist mir z. B. die isolierte Färbung des Ektoplasmas beim Gonococcus und B. coli wiederholt schon mit 10proz. Tannin

1) Die Resultate dieser Arbeit, deren Fertigstellung infolge äußerer Umstände verzögert worden ist, sind bereits im Vortrag Mikrobiol. Ges. zu Berlin am 19. 1. 25 mitgeteilt worden. (Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 561.)

MAY 24 1927

624905

gelungen. Dagegen gaben andere, z. B. die Typhusgruppe und Meningococcus mit dieser Methode keine ausreichende Färbung. Wohl aber erwies sich eine 30proz. Tanninlösung, besonders bei Nachfärbung mit geeigneten basischen Farbstoffen, als zuverlässige Methode, die bei sämtlichen untersuchten gramnegativen Arten den isolierten Nachweis der Hülle gestattet.

1. Tannin-Methylviolett (Methylenblau)-Methode.

Technik der Ektoplasmafärbung. Am geeignetsten sind Ausstriche von Plattenkulturen, doch habe ich auch wiederholt bei Bouillonkulturen gute Resultate erhalten. Die in gewöhnlicher Weise hitzefixierten Objektträgerausstriche werden 5—10 Min. mit 30proz. Tannin bei gewöhnlicher Temperatur behandelt, gründlich mit Leitungswasser abgespült und darauf 5—10 Min. mit einer 1proz. wässerigen Lösung von Fuchsin, Safranin, Methylenblau oder Methylviolett nachgefärbt, abgespült und getrocknet. Die besten Resultate gaben mir Methylviolett, Methylenblau und Methylenblau 2 B Extra.

Bei gelungener Färbung erscheinen die Stäbchenformen als Rechtecke mit ziemlich schmaler, aber scharf begrenzter Membran, während das Zentrum ungefärbt ist (Fig. 1 B. typhi). Die Kugelformen (Gono-Meningococcus) liefern dieselben Bilder wie die grampositiven Strepto-Staphylokokken, nämlich eine distinkte Kreislinie mit ungefärbtem Zentrum. Auch hier kommen die Teilungslinien zwischen zwei zusammenhängenden Individuen gut zum Vorschein. Speziell beim Gonokokkus zeigt die Ektoplasmafärbung (Fig. 2), daß die bekannten kaffeebohnenförmigen Gebilde, von denen je zwei zusammenliegen, einen Individuum mit gemeinsamer Membran angehören, zwischen denen sich eine Teilungslinie befindet.

Bei Nachfärbung mit Methylviolett wird neben dem Ektoplasma auch noch eine event. vorhandene Kapsel z. B. beim B. Friedländer mitgefärbt (vgl. Fig. 3).

An einzelnen Exemplaren tritt nach dieser Methode am inneren Rande des Ektoplasmas, besonders an den Polen, ein kleines violettes punktförmiges Gebilde auf, das von mir als Mikrogranulum an allen Bakterien nachgewiesen worden ist (3). Dieses läßt sich aber noch deutlicher durch folgende Methode zur Darstellung bringen:

2. Karbol-Tannin-Methylenblau-Methode.

Technik: Die fixierten Ausstriche werden 5 Min. mit 5proz. Karbolwasser behandelt, abgespült, 5 Min. mit 30proz. Tannin gebeizt, abgespült und ca. 3—5 Min. mit 1proz. Methylenblau gefärbt, abgespült und getrocknet.

Die Bakterien (vgl. Fig. 4) zeigen ein schmales hellblaues Ektoplasma, an dem einen Polende ist das kleine dunkelblaue Pünktchen (Mikrogranulum) sichtbar. Der Zelleib ist fast ungefärbt.

Doppelfärbungen.

Ebenso wie die in der 1. Mitteilung für die Grampositiven bereits ausführlich beschrieben worden ist, lassen sich auch bei den gramnegativen Arten Doppelfärbungen verschiedener Bakterienteile in zwei Kontrastfarben herstellen. Ein Unterschied besteht nur insofern, als die hier zur Verwendung gelangende Tanninlösung infolge ihrer stärkeren Konzentration, die mit basischen Farbstoffen vorgefärbten Bakterien zu einem erheblichen Teil wieder entfärbt. Färbt man also z. B. einen Bakterienausstrich mit Karbolmethylenblau und behandelt mit konzentriertem Tannin nach, so wird der Zelleib bis auf den Kern, bei längerer Beizungsdauer sogar auch dieser, völlig entfärbt.

Zu Erzielung einer Ektoplasma-Endoplasmafärbung in zwei Kontrastfarben hat sich uns die nachstehende Methode bewährt.

3. Karbolbrillantgrün-Tannin-Safranin-Methode.

Technik: Die hitzefixierten Bakterienausstriche werden mit Karbolbrillantgrün (1 Proz. Brillantgrün, 5proz. Karbolwasser zu gleichen Teilen, frisch hergestellt) unter Erwärmen etwa 3—5 Min. gefärbt, abgespült, 5 Min. mit konzentriertem Tannin nachbehandelt, gründlich abgespült und 5 Min. mit Safranin (oder Fuchsin) nachgefärbt, abgespült und getrocknet.

Die Bakterien zeigen einen schönen giftgrünen Leib (Endoplasma), von einer schmalen roten Membran begrenzt wird. [Vgl. Fig. 5 (Gonococcus), Fig. 6 B. pyocyaneum, Fig. 7 B. dysenteriae.]

Für die Darstellung des Ektoplasmas in Verbindung mit Sichtbarmachung des Bakteriumkerns in einer Kontrastfarbe kommen dieselben Methoden wie bei den Grampositiven in Frage [vgl. Allg. Bau u. Kern der Bakt. (3)], nur daß hier eine konzentrierte Tanninbeize zur Anwendung gelangen muß. In der Hauptsache sind die folgenden beiden Verfahren zu empfehlen, die bei unvorbehandelten Bakterienausstrichen schöne Resultate liefern.

4. Karbolmethylenblau-Tannin-Safranin-Methode.

Technik: Die Bakterienausstriche werden 5 Min. mit Karbolmethylenblau unter Erwärmen gefärbt und abgespült. Eine Differenzierung mit Essigsäure ist im Gegensatz zur folgenden Methode nicht notwendig, da dieser Farbstoff abweichend von der Ziehlschen Lösung nicht sehr fest an den Bakterien haftet, so daß durch die jetzt folgende Beizung mit konzentriertem Tannin (5 Min.) die Entfärbung der Bakterien bis auf die Granula bewirkt wird. Wasserspülen und Nachfärben mit 1 Proz. Safranin oder Fuchsin (2—3 Min.), Spülung, Trocknen.

Unterm Mikroskop enthalten die Stäbchen und Kugelformen 1, zu weilen auch 2 blaue Granula, während das Ektoplasma hellrot gefärbt ist (Fig. 8 Gonococcus, Fig. 10 B. dysenteriae, Fig. 9 Pyocyaneus, Fig. 11 B. Friedländer).

5. Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau-Methode.

Die hitzefixierten Bakterienausstriche werden 1—3 Min. mit Ziehlscher Lösung gefärbt (bei kleinen Mikroben empfiehlt es sich, die Farblösung zu erwärmen), gründlich abgespült, mit verdünnter Essigsäure (5proz.) so lange differenziert, bis die Ausstriche hellrot aussehen — ca. 1—3 Min., je nach der Dicke des Ausstriches, — gründlich abgespült, mit konzentriertem Tannin 5 Min. gebeizt, abgespült und mit 1proz. Methylenblau 5 Min. nachgefärbt, abgespült und getrocknet.

Die Stäbchenformen zeigen 1—2 runde rote Granula, der Bakterienleib ist ungefärbt, das Ektoplasma blau, die Kugelformen — Gono- Meningococcus — weisen ein rundes oder zwei mehr längliche rote Granula mit blauer kreisrunder Membran auf.

Bei längerer Beizung mit Tannin (10 Min.) und ebensolanger Nachfärbung mit Methylenblau oder Methylenblau 2 B-Extra (Kahlbaum) erhält man bei vielen Arten eine viel breitere Membran, die fast als Kapsel anmutet. Die einzelnen Bakterien erscheinen nach dieser Methode viel größer als bei den zuerst genannten (vgl. Fig. 12 Pyocyaneus, Fig. 14 B. dysenteriae, Fig. 13 Fleckfieberkultur Rickettsia-Form des Proteus, Kucrynski), Fig. 15 Gonococcus, Fig. 16 B. Friedländer).

Der Unterschied zwischen der Größe der Bakterien bei der letztgenannten Methode 5, im Gegensatz zu den ersteren 4 anderen Me-

thoden dürfte meiner Ansicht nach darauf beruhen, daß auch die gramnegativen Bakterien eine doppelt konturierte Membran besitzen, wie wir sie zuerst bei den grampositiven Arten an den Hefezellen färberisch sichtbar machen konnten (4). Während aber die ersten Methoden nur die innere Membran, d. h. die äußere Begrenzungslinie des Endoplasmas, sichtbar machen, wird durch die Karbolfuchsin-Essigsäure-Methylenblau-Methode außerdem noch die äußere Membran mitgefärbt; deshalb erscheint bei diesem Verfahren das Ektoplasma viel breiter, so daß es an eine Kapselbildung erinnern kann.

Daß die ersten Methoden (1—4) tatsächlich nicht das gesamte Ektoplasma färben, kann man daraus schließen, daß die einzelnen Bakterien unter dem Mikroskop bei starker Abblendung noch einen hellen ungefärbten Saum erkennen lassen. Freilich wird dieses Phänomen allgemein darauf zurückgeführt, daß es durch eine optische Interferenzerscheinung bedingt sei. Dem läßt sich aber entgegenhalten, daß bei den nach Methode 5 gefärbten Bakterien dieser helle ungefärbte Saum, auch bei stärkster Abblendung, nicht mehr zu erkennen ist. Wäre aber der sonst sichtbare, das Bacterium rings umgebende helle Saum durch Interferenz bedingt, so müßte er auch an den Präparaten nach Methode 5 zu beobachten sein. Ueberhaupt bin ich auf Grund meiner zahlreichen Versuche über die Ektoplasmafärbungen zu der Ueberzeugung gelangt, daß überall da, wo eine solche helle Begrenzungslinie an Bakterien oder tierischen Zellen bei starker Abblendung unter dem Mikroskop zu beobachten ist, sich diese Linie durch bestimmte Färbemethoden färberisch darstellen läßt.

Chemischer Bau des Ektoplasmas.

Nachdem die eingehende mikrochemische Analyse zu dem Ergebnis geführt hat, daß das Ektoplasma der grampositiven Bakterien eine Lipoideiweißverbindung enthalte (vgl. 4), bestehend aus einem gramfesten sauren Lipoid — Ursache der Gramschen Färbung — und einem basischen Eiweißkörper, so war von vornherein zu erwarten, daß auch die gramnegativen Arten einen ähnlichen Bau ihrer Membran aufweisen dürften. Nun haben die mikrochemischen Untersuchungen ferner ergeben (3), daß das Tannin als saure Beize die basische Grundsubstanz des Ektoplasmas zur Darstellung bringt (vermittels der Tripelverbindung: basische Grundsubstanz — Tannin — basischer Farbstoff). Da nun, wie im vorigen Abschnitt beschrieben worden ist, auch die Membran der gramnegativen Bakterien mit Hilfe derselben Beize, nur in konzentrierter Lösung, sich färben läßt, so ist damit wahrscheinlich gemacht, daß auch die letzteren Mikroben ein solches basisches Eiweiß als Grundsubstanz enthalten dürften. Der Nachweis dieser Substanz konnte bei den grampositiven auch vermittels direkter isolierter Färbung mit einem sauren Farbstoff [Phosphin-Guineagrün-Methode (3)] gefärbt werden. Diese Methode führt jedoch bei den kleinen gramnegativen Arten nicht zum Ziel. Nur bei einigen, z. B. Bact. B. tumefaciens, konnten wir eine isolierte Darstellung des Ektoplasmas mit Guineagrün, nach Vorfärbung des Zelleibs mit Phosphin, erzielen.

Es war nun zu erwarten, daß dieses basische Eiweiß nicht als einzige Substanz im Ektoplasma der Gramnegativen enthalten sein dürfte, da die bisherigen mikrochemischen Untersuchungen über den allgemeinen Bau der Bakterien ergeben haben, daß deren einzelne Teile

(Endoplasma, Ektoplasma), daneben noch mindestens einen sauren Körper regelmäßig enthalten. Fraglich war jedoch, ob dieser saure Körper ebenso wie bei den Grampositiven ein Lipoid sei. Der färberisch-chemische Nachweis eines Lipoids in der Membran der Gramnegativen läßt sich jedoch in folgender Weise führen:

Behandelt man fixierte Ausstriche der Gramnegativen 24—48 Std. mit 10proz. Salzsäure und spült gründlich mit Wasser ab, so lassen sich die Bakterien noch recht gut mit basischen Farbstoffen, z. B. Safranin, Fuchsin, polychr. Methylenblau, Methylviolett usw. darstellen. Da die sauren Eiweiße (Nukleoproteide) durch die Vorbehandlung entfernt worden sind, so war anzunehmen, daß die Färbung mit basischen Farbstoffen auf sauren Lipoiden beruht. Hierdurch war jedoch noch nicht wahrscheinlich gemacht, daß ein solches Lipoid nicht nur im Endoplasma, sondern auch in der Membran enthalten sei. Dazu wäre es notwendig gewesen, das Ektoplasma isoliert mit einem basischen Farbstoff darzustellen. Dies gelang uns aber ebenso wie bei den Grampositiven vermittels Viktoriablau.

Technik: Die fixierten Bakterienausstriche werden 24—48 Std. mit 10proz. Salzsäure in einer Kuvette behandelt, gründlich abgespült und dann kurz ($^1/_4$ Min.) mit 1 Proz. Viktoriablau B (Kahlbaum) gefärbt, abgespült und getrocknet.

Unter dem Mikroskop zeigen die Bakterien eine schmale dunkelblaue Begrenzungslinie und einen ungefärbten Leib (vgl. Fig. 17 Bac. Friedländer). Die durch diesen Farbstoff nachgewiesene Membran der Bakterien entspricht der inneren Membran, während die äußere Begrenzungslinie hierbei nicht gefärbt wird. Um Mißverständnissen vorzubeugen, möchte ich bei dieser Gelegenheit betonen, daß diese innere Membran der Bakterien der äußeren Begrenzungslinie des Zellleibs (Zytoplasma, Endoplasma) entspricht. Auf diese Begrenzungslinie beziehen sich unsere Untersuchungen und der Nachweis des sauren Lipoids. Dagegen stellt die äußere Membran sowohl bei den grampositiven als auch bei den gramnegativen Bakterien einer sehr schwer färbbare Substanz dar, deren chemische Zusammensetzung noch zu ermitteln ist.

Daß durch die Färbung mit Viktoriablau ein gebundenes Lipoid des Ektoplasmas dargestellt wird, läßt sich in gleicher Weise wie bei den Grampositiven (4) dadurch wahrscheinlich machen, daß durch Behandlung der Bakterien mit heißer 2proz. Salzsäure und nachfolgender Alkoholextraktion eine Färbung des Ektoplasmas mit Viktoriablau nicht mehr möglich ist. Also muß durch diese Prozedur das Ektolipoid gelöst worden sein. Ebenso wie bei den Gram-positiven, ist auch hier das im Endoplasma enthaltene Lipoid-Endolipoid wesentlich widerstandsfähiger, da es trotz dieser Vorbehandlung noch nachweisbar ist: Die Bakterien lassen sich nach Vorbehandlung mit heißer Salzsäure und nachfolgender Alkoholextraktion noch mit basischen Farbstoffen — Safranin, Fuchsin — usw. deutlich färben. Erst eine darauf folgende Behandlung der Bakterienausstriche mit 10proz. Salzsäurealkohol (48 bis 72 Std.) bringt auch diese Färbung zum Verschwinden.

Nach dieser Vorbehandlung geben die Bakterienausstriche mit basischen Farbstoffen keine Färbung mehr. Eine Ausnahme bildet nur Viktoriablau, mit dem sie sich noch darstellen lassen. Dasselbe Verhalten zeigen übrigens, wie ich hierbei erwähnen möchte, auch die Grampositiven. Worauf dieser auffällige Befund beruht, ist schwer zu sagen. Vielleicht enthalten die Bakterien trotz Salzsäurealkoholbehandlung

noch geringe Lipoidreste, die sich nur durch die völlige Zertrümmerung der Mikroben entfernen lassen.

Nach der beschriebenen Behandlung mit Salzsäurealkohol sind die Bakterienausstriche noch vorhanden und lassen sich mit sauren Farbstoffen leicht und bequem in voller Größe färben. Diese Färbungen beruhen auf der Grundsubstanz, die demnach ein basisches Eiweiß sein dürfte.

Wir kommen demnach zu dem Ergebnis, daß die gramnegativen Bakterien einen ähnlichen Bau wie die Grampositiven aufweisen. Sie enthalten ein Makro- und Mikrogranulum, das an anderer Stelle (3) behandelt worden ist. Im Zelleib weisen sie ebenfalls ein gebundenes saures Lipoid (Endolipoid) auf. Der wesentlichste Unterschied von den Grampositiven besteht nur darin, daß ihr Ektolipoid, nachweisbar durch Viktoriablau, nicht gramfest ist.

Wenn also die farbenanalytischen Untersuchungen zu dem Ergebnis geführt haben, daß die beiden Hauptgruppen der Bakterien nur durch den Bau des Ektoplasmas, und zwar dessen Lipoidbestandteils sich unterscheiden (der basische Bestandteil, die Grundsubstanz, scheint bei beiden dieselbe zu sein, wenigstens lassen sich wesentliche färberische Verschiedenheiten nicht nachweisen), indem die Grampositiven mit Gentianaviolett-Jod eine in Alkohol unlösliche Verbindung eingehen, während dieselbe Verbindung der Gramnegativen in demselben Lösungsmittel leicht löslich ist, so erhebt sich noch die Frage, ob die Unterschiede qualitativer oder quantitativer Natur sein könnten. Für die letztere Annahme könnte die Tatsache sprechen, daß die gramnegativen Arten eine schmale Membran besitzen, die wahrscheinlich auch weniger Lipoid als die Grampositiven enthalten. Im Sinne dieser Annahme dürfte auch die Tatsache erklärlich sein, daß die grampositiven Bakterien untereinander weitgehende Verschiedenheiten bezüglich der Entfärbbarkeit durch konzentrierten Alkohol aufweisen. Bekannt ist ja jedem Bakteriologen, daß z. B. Hefezellen B. anthracis, Strepto-Staphylokokken bei der Gramschen Färbung auch durch ziemlich langen Aufenthalt der Ausstriche im Alkohol nicht entfärbt werden. Im Gegensatz dazu geben Pneumokokken und Diphtheriebakterien viel schneller ihre Farbe in diesem Lösungsmittel ab. Nach den bekannten Untersuchungen von Grimme (5) und Neide (6) ist sogar die Gramfestigkeit eines und desselben Bakterienstandes je nach den im Versuch gewählten Entwicklungsformen, dem Alter der Kultur, je nach der Art der Ernährung ein stark schwankender. Neide führte insbesondere den Begriff der Gramdauer ein, d. h. der Zeit, in welcher ein mit Gentianaviolett-Jod gefärbter Bakterienausstrich in konzentriertem Alkohol seine Farbe wieder abgibt. Die Gramdauer ist nach Neide bei den einzelnen grampositiven Bakterien eine sehr verschiedene. Diese Befunde legen die Annahme nahe, daß das abweichende Verhalten der grampositiven Bakterien untereinander bei der Gramfärbung auf quantitativen Verschiedenheiten ihres Ektolipoids beruhen dürfte, d. h. die mit einer ziemlich dicken Membran versehenen Formen, z. B. Hefezellen, B. anthracis, Strepto-Staphylokokken enthalten verhältnismäßig viel Membranlipoid und deswegen sind sie gegenüber der entfärbenden Wirkung des konzentrierten Alkohols widerstandsfähiger als die Pneumokokken und Diphtheriestäbchen, die eine viel schmälere Membran und wahrscheinlich

deswegen einen geringeren Gehalt an Ektolipoid aufweisen dürften. Für die gramnegativen Arten, die eine noch dünnere Membran besitzen, erscheint daher die Annahme ungezwungen, daß sie noch weniger Ektolipoid als z. B. Diphtheriestäbchen enthalten. Demnach könnten quantitative Unterschiede des Ektolipoids für das Fehlen der Gramfestigkeit bei den Gramnegativen verantwortlich gemacht werden. Jedenfalls lassen die bisherigen Untersuchungen keine zwingenden Gründe erkennen, auch qualitative Unterschiede zwischen dem Ektolipoid der grampositiven und gramnegativen Arten anzunehmen. Immerhin läßt sich die Annahme eines qualitativ erschienenen Ektolipoids bei beiden Bakterienarten nicht mit genügender Wahrscheinlichkeit ausschließen. Im Gegenteil scheinen mir die verschiedenen Permeabilitätseigenschaften dieser Bakterienarten für die letztere Annahme zu sprechen. Bekanntlich werden gramnegative Bakterien durch hypertonische Salzlösungen plasmolysiert, nicht aber die Grampositiven. Die durch diese Versuche nachweisbare Undurchlässigkeit der Gramnegativen für Salze im Gegensatz zu den Grampositiven, die für diese Stoffe permeabel sind, dürfte durch einen nur quantitativen Unterschied des Ektolipoids nicht ausreichend erklärt werden. Auch bezüglich der Färbbarkeit mit basischen Farbstoffen unterscheiden, sich nach Eisenberg (7) die beiden Bakterienarten, indem die Grampositiven sich viel schneller als die Gramnegativen mit diesen Farbstoffen anfärben lassen. Die sichere Beantwortung dieser Frage ist daher nur dadurch zu ermöglichen, daß aus einer genügend großen Kulturmenge eines gramnegativen Bakteriums das Membranlipoid isoliert und einer eingehenden chemischen Analyse unterworfen wird.

Bedeutung der Lipoidmembran.

Die bisherigen farbenanalytischen Untersuchungen über den Bau der Bakterien haben nach den obigen Ausführungen ergeben, daß alle Mikroben von einer äußeren Membran begrenzt werden, die als eine Lipoideiweißverbindung zu charakterisieren ist. In Parenthese möchte ich hierbei noch bemerken, daß auch für die Membran der tierischen Zellen (8), insbesondere auch der roten Blutkörperchen (9) ein ähnlicher mikrochemischer Bau wahrscheinlich gemacht werden konnte. Diese chemische Zusammensetzung der Bakterienmembran ist geeignet, einige bekannte Tatsachen aus der Biologie dieser einzelligen Lebewesen einer, wie mir scheint, ausreichenden Erklärung zuzuführen. Bekanntlich haben die Gramnegativen nach den Untersuchungen von A. Fischer die Eigenschaft einer semipermeablen Membran. Hierauf beruht nach diesem Autor die Tatsache, daß diese Bakterien plasmolysierbar sind, d. h. in hypertonischen Salzlösungen eine Ablösung des Protoplasmas von der Membran aufweisen. Daß die Plasmolyse durch hypertonische Salz- und Zuckerlösungen erzeugt werden kann, wird mit Recht darauf zurückgeführt, daß die Membran der Gramnegativen wohl für Wasser, nicht aber für die oben genannten Substanzen durchlässig sind. Unerklärt ist aber bis jetzt die Tatsache, daß eine Plasmolyse durch hypertonische Lösungen von Antipyrin, Chloralhydrat, Glyzerin, Harnstoff usw. nicht herbeigeführt werden kann. Der von uns nachgewiesene Gehalt der Bakterienmembran an Lipoideiweißverbindungen läßt aber unseres Erachtens die letztgenannte Tatsache durchaus erklärlich erscheinen: Die zuletzt erwähnten Substanzen sind ohne Ausnahme lipoidlöslich,

deshalb vermögen sie mit Leichtigkeit die Membran der gramnegativen Bakterien zu passieren. Daher kann mit einer hypertonischen Lösung einer solchen lipoidlöslichen Substanz keine Plasmolyse erzeugt werden.

Wenn nun die grampositiven Bakterien auch durch hypertonische Salzlösung nicht plasmolysierbar sind, so muß daraus geschlossen werden, daß ihre Membran für Salze ebenso leicht wir für Wasser durchlässig ist. Uebrigens zeigen sie, wie oben erwähnt, nach Eisenberg auch ein abweichendes Verhalten gegenüber basischen Farbstoffen, für die sie leichter als die Gramnegativen permeabel sind. Worauf dieses abweichende Verhalten beruht, ist nicht mit Sicherheit zu sagen. Wahrscheinlich dürfte es durch die Dicke der Membran, bzw. die abweichenden qualitativen oder quantitativen Eigenschaften des Ektolipoids bedingt sein.

Eine weitere Tatsache, die auf dem chemischen Bau der Bakterienmembran beruhen dürfte, ist die Abhängigkeit der Giftigkeit der Desinfektionsmittel von dem Vehikel, in dem sie zur Einwirkung gelangen[1]). Die Desinfektionsmittel müssen nämlich, um eine Abtötung der Bakterien zu bewirken, in Wasser gelöst sein. Dagegen sind die, falls sie in Alkohol, Aceton, Glyzerin, Choroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol oder in Oelen gelöst sind, ohne Wirkung auf die Mikroben. So fand z. B. Robert Koch, daß eine 5proz. Lösung von Karbolsäure in Oel oder Alkohol Anthraxbakterien auch nach mehrtägiger Einwirkung nicht abzutöten vermag, im strikten Gegensatz zu der starken Giftigkeit der wässerigen Lösung derselben Substanz.

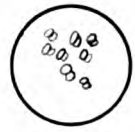
Diese Tatsachen scheinen mir durch den von uns geführten Nachweis, daß die Bakterien eine Lipoideiweißmembran besitzen, hinreichend begründet zu sein. Die Desinfektionsmittel sind nämlich, worauf Kahle und vor kurzem Schumacher (10) hingewiesen haben, lipoidlöslich. Dies ist nicht weiter verwunderlich, da sie ohne diese Eigenschaft nicht die Lipoidmembran der Bakterien durchdringen könnten. Voraussetzung für jede Desinfektionswirkung ist aber selbstverständlich, daß die betreffende Substanz in das Bakterium einzudringen vermag, um ihre giftigen Wirkungen entfalten zu können. Wirkt nun ein solches lipoidlösliches Desinfektionsmittel in wässeriger Lösung auf Bakterien einige Zeit lang ein, so wird es vermöge seiner größeren Löslichkeit in Lipoiden als in Wasser mit Leichtigkeit durch die Membran in die Mikroben eindringen. Daher sind in solchen Fällen die Voraussetzungen für eine Abtötung dieser Lebewesen gegeben. Ganz anders liegen aber die Bedingungen für das Eindringen der Gifte in die Bakterien, wenn erstere in einem lipoidlösenden Medium (Alkohol, Benzol usw.) zur Einwirkung gelangen. In diesem Falle ist nämlich die Löslichkeit des Desinfektionsmittels in dem betreffenden Vehikel zu Ungunsten der Lipoidmembran der Bakterien verschoben. Aus diesem Grunde vermag das Gift erst gar nicht in die Bakterien einzudringen und daher auch keine Abtötung derselben zu bewirken. Die Giftigkeit der Desinfektionsmittel im allgemeinen hängt nämlich unter anderem noch von dem Faktor

---

1) Diese Erklärung habe ich bereits in meinem Vortrag vor der Mikrobiolog. Gesellsch. zu Berlin vom 19. 1. 25 gegeben. Vgl. auch Gutstein, Neuere Ergebnisse über den Bau der Bakterien in Wratschebnoje Obosrenije [russisch], Nr. 2 (Febr. 26). Dieselben Gedankengänge entwickelt auch Schumacher im Centralbl. f. Bakt. Bd. 97, nur daß dieser Autor das Vorhandensein der Lipoideiweißmembran der Bakterien nicht berücksichtigt.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

1



2

3

4

5

6

7

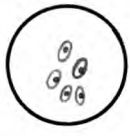
8

9

10

11

12

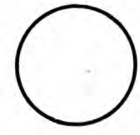


13

14

15

16



17

$$\text{Löslichkeit in der Lipoidmembran der Bakterien} \over \text{Löslichkeit im Lösungsmittel}$$

ab. Dieser Quotient ist bei wässerigen Lösungen größer als 1; dagegen aber ein echter Bruch bei Einwirkung eines Desinfektionsmittels in alkoholischer oder öliger Lösung.

Literatur.

1) Gutstein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. — 2) Ders., Ibid. Bd. 94. H. 3. — 3) Ders., Ibid. Bd. 95. H. 7/8. — 4) Ders., Ibid. Bd. 95. H. 1. — 5) Grimme, zit. nach Baumgärtel, Grundriß der theoretischen Bakteriologie. S. 68. — 6) Neide, Ibid. — 7) Eisenberg, Handb. d. mikrobiolog. Technik von Kraus-Uhlenhuth, Bd. 1. — 8) Vortrag Pathol. Ges. Berlin. Dez. 24; Klin. Wochenschr. 1925. — 9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. Beih. — 10) Schumacher, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Abkürzungen: Mv = Methylviolett 1proz., M = Methylenblau 1proz., cBg = Karbolbrillantgrün, S = Safranin 1proz., cM = Karbolmethylenblau, cF = Karbolfuchsin, c = Karbolwasser 5proz., Ess = Essigsäure 5proz., V = Viktoriablau 1proz., T' = Tannin 30proz.

Die in den Klammern befindlichen Zahlen bedeuten die Färbedauer in Minuten.

Fig. 1. B. typhi T' (5—10') Mv (5—10'). Ektoplasma violett, Zelleib ungefärbt.

Fig. 2. Gonococcus T' (5—10') Mv (5—10'). Ektoplasma violett, Endoplasma hell. Je 2 kaffeebohnenförmige Gebilde bilden ein Individuum mit gemeinsamer ringförmiger Kapsel und Teilungslinie!

Fig. 3. B. Friedlaender T' (5—10), Mv (10'): Zelleib ungefärbt, Ektoplasma dunkelviolett, äußere Begrenzung der Kapsel hellviolett.

Fig. 4. Fleckfieberstamm 141 (Kuczynski). c (5') T' (5) M (2—3'): Ektoplasma blau, Mikrogranulum dunkelblau, an den Polen gelegen.

Fig. 5. Gonococcus. cBg (5' heiß) T' (5') S (5'): Zelleib grün, Ektoplasma rot.

Fig. 6. B. pyocyaneum. cBg (5' heiß) T' (5') S (5'): Zelleib grün, Ektoplasma rot.

Fig. 7. B. dysenteriae. cBg (5' heiß) T' (5') S (5'): Zelleib grün, Ektoplasma rot.

Fig. 8. Gonococcus. cM (5' heiß) T' (5) S (2—3'): Kern (Makrogranulum) blau, Ektoplasma rot.

Fig. 9. B. pyocyan. cM (5' heiß) T' (5) S (2—3'): Kern (Makrogranulum) blau, Ektoplasma rot.

Fig. 10. B. dysenteriae. cM (5' heiß) T' (5) S (2—3'): Kern (Makrogranulum) blau, Ektoplasma rot.

Fig. 11. B. Friedlaender. cM (5') T' (5) S (5—10): Kerne blau, Kapsel rot.

Fig. 12. B. pyocyaneum. cF (5' heiß) Ess (1—2') T' (10') M (10'): Kerne rot, von einer breiten blauen Kapsel umgeben.

Fig. 13. Fleckfieberstamm 141 (Kuczynski). cF (5' heiß) Ess (1—2') T' (10') M (10'): Kerne rot, von einer breiten blauen Kapsel umgeben.

Fig. 14. B. dysenteriae. cF (5' heiß) Ess (1—2') T' (10') M (10'): Kerne rot, von einer breiten blauen Kapsel umgeben.

Fig. 15. B. Friedlaender. Dieselbe Färbung: Kerne rot, Kapsel blau.

Fig. 16. Gonococcus. Dieselbe Färbung: Kerne, bzw. Zelleib rot, breite blaue Kapsel.

Fig. 17. B. Friedlaender. 24 Std. mit HCl (10proz.) vorbehandelt. V (1/4'): Ektoplasma blau, Zelleib ungefärbt.

Nachdruck verboten.

Einfacher Tuberkelbazillennachweis.

Von Prof. Dr. **Georg Mayer**, Dillingen/Donau.

Immer hört man die Klage über die Schwierigkeit des Nachweises der Tuberkelbazillen in manchen Fällen, man hört die Ansicht, in einem Sputum, das stark mit Blut gemischt sei, oder bei einer Lungenblutung gelinge der Nachweis überhaupt kaum, ähnlich schwierig ist es mit dem Nachweis aus Stuhl und Harn, aus örtlichen Tuberkulosen, Gelenk- und Knochenentzündungen.

Die bisherigen Methoden hatten die Schwäche, die gerade vorhandenen Tuberkelbazillen finden zu wollen. Demgegenüber bemühte ich mich seit langen Jahren, ein einfaches und sicheres Züchtungsverfahren zu finden, also durch kulturelle Massenanreicherung die wenigen, eventuell gerade vorhandenen Tuberkelbazillen zu erweisen. Die früher versuchten Nährböden genügten nicht. Nun ist aber durch E. Merck in Darmstadt die Standard I-Nährbouillon nach Kuczynski erhältlich, die sich mir als glänzendes Kulturmittel nicht nur für andere Bakterien, sondern gerade auch für Tuberkelbazillen erwies.

Der Nachweis ist nun höchst einfach:

Das Sputum wird ohne jeden Zusatz in einem der üblichen Sputum-Versandgefäße aufgefangen. Es genügt eine Menge, welche die Kuppe des Gläschens in ungefährer Höhe einer Fingerdicke füllt. Das Gläschen wird mit der Standard I-Bouillon aufgefüllt, so daß noch ein Wattepfropfen aufgesetzt werden kann. Das Gläschen kommt auf 3 Tage in den Thermostat bei 37°, unter wiederholtem Umschütteln. Dann wird die überstehende, klarere Schicht abgegossen, daß ungefähr ein 2—3 cm hoher Rest bleibt. Dieser wird 1 Std. scharf zentrifugiert. Vom zentrifugierten Sediment wird wieder abgegossen, das Sediment auf Objektträger ausgestrichen und in üblicher Weise auf Tbc. gefärbt.

Wenn Tbc. überhaupt vorhanden waren, finden sie sich in jedem Falle, und zwar vielfach in Häufchen, also der beginnenden Kultur.

Von Stuhl wird eine ungefähr nußkerngroße Menge, mit besonderer Hinzunahme schleimiger Auflagerungen, in einem Erlenmeyerkolben mit Glasstab verrieben und dann mit ca. 50 ccm der Standard I-Bouillon aufgefüllt, 3—6 Tage Brutschrank, dann Verfahren wie oben.

Von Harn wird eine Menge von ca. 40 ccm (= 4 Zentrifugenröhrchen) unter eventuellem 2—3maligen Auffüllen scharf 1 Std. zentrifugiert, der Inhalt der Röhrchen zuletzt bis auf die untersten 2—3 ccm abgegossen, die Reste kräftig durchgeschüttelt, in einen Erlenmeyerkolben gebracht, 50 ccm Standard I-Bouillon zugesetzt, 3—6 Tage Brutschrank, dann wie oben. Von örtlichen Tuberkulosen wird ungefähr eine 1—2 ccm haltende Masse (Gewebe, Eiter, Gelenkflüssigkeit) mit 50 ccm Standard I-Bouillon im Erlenmeyerkolben verrieben (Glasstab), 6 Tage Brutschrank, dann wie oben. Pleuritische, Peritonitische Exsudate werden wie Harn behandelt.

Juli 1926.

Nachdruck verboten.

Atypische Wuchsformen von Bakterien als Krankheitserreger. Mucosus-Form von B. paratyphi im Blut eines Paratyphuskranken.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Köln (Dir.: Prof. Dr. Reiner Müller).]

Von Dr. **Curt Sonnenschein.**

Mit 1 Tafel.

1925, bei der 11. Tagung der „Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie", konnte ich über das natürliche Vorkommen der Mucosusform von B. paratyphi B (hominis) in den Ausscheidungen von Kranken und Dauerausscheidern berichten. Diese, im Menschen gefundene Mucosus-Form gleicht völlig der experimentell züchtbaren Mucosus-Form des B. paratyphi B, die ich unter Bakteriophagen-Einwirkung aus der normalen Schleimwallform im Auftropfversuch oder in flüssigem, bakteriophagenhaltigem Medium gewinnen konnte. Man darf annehmen, daß auch im menschlichen Körper diese Mucosus-Form ein Reaktionsprodukt auf die Einwirkungen anwesender homologer Bakteriophagen sein kann, zumal da ich bei den bisher untersuchten Paratyphus B-Fällen mit Mucosus-Formen im Stuhl stets gleichzeitig Bakteriophagen für die angreifbare Normalform (Schleimwallform) von B. paratyphi B gefunden habe. Es ist aber auch möglich, daß bereits von vornherein, mittelbar oder unmittelbar, z. B. durch einen Mucosus-Form-Dauerausscheider, eine Infektion nur mit einer (reinen) atypischen Erregerform, z. B. der Mucosus-Form, erfolgt.

Eine sichere Beobachtung beim Menschen liegt meines Wissens hierüber noch nicht vor; daß aber derartige Infektionen vorkommen, ist bei der von mir festgestellten Häufigkeit der Ausscheidung der Mucosus-Form und der Konstanz dieser atypischen Wuchsform immerhin wahrscheinlich. Auf die Angaben E. Friedbergers über filtrierbare Entwicklungsformen des Typhus- und Paratyphuserregers, denen er eine besondere Rolle bei der Infektionsausbreitung zuschreibt, möchte ich hier nur kurz hinweisen. Derartige Mucosus-Formen hat bereits d'Herelle unter Bakteriophageneinwirkung experimentell bei Ruhr-Bakterien erzeugt; er gibt aber an, daß sie, ebenso wie die bekannten schleimigen Kolonienformen von B. coli, nach einiger Zeit und nach einigen Ueberimpfungen wieder in die Normalform zurückschlagen. Wie schon früher (ds. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. Beih. S. 312) angegeben, trifft dies weder für meine experimentellen, noch für die spontanen Mucosus-Paratyphus B-Stämme vom Menschen zu. So leicht es mit der von mir angegebenen Gallemethode gelingt, in Gallekultur von Mucosus-Formen die Entschleimung und die Abspaltung einer nichtmukösen, gut agglutinablen und phagierbaren Form zu erzwingen, so unverändert haben diese Mucosus-Stämme auf Nähragar- oder Endo-Agarplatten bisher, im Verlauf von etwa $1^1/_2$ Jahren, trotz vielfacher Ueberimpfungen, diese muköse, inagglutinable und schwer phagierbare Wuchsform bei-

behalten! Aber weder die Inagglutinabilität, noch die Inphagibilität ist uneingeschränkt. Einerseits ist nach Ausspateln der Mucosus-Form auf Kulturplatten (z. B. mittels Glasspateln) aus nach einigen Tagen austrocknenden und damit nicht mehr feuchtschleimigen Bakterienrasen sehr wohl eine Agglutination in spezifischem Serum erreichbar; andererseits gibt es auch experimentell angepaßte oder gefundene Bakteriophagen, die sehr wohl auch Mucosus-Formen von Bakterien, sei es Mucosus paratyphi, sei es das bekannte, bisher sogenante Bact. muc. Abel u. a., phagieren. Aus Nasensekret von Ozäna-Kranken konnte ich, bisher allerdings selten, derartige Bakteriophagen für daraus gezüchtete Stämme dieses sogenannten Bact. muc. Abel gewinnen.

Ein Meerschweinchen, das ich intraperitoneal mit dem B. paratyphi B mucosum impfte, zeigte auch post mortem in seinen Organen nur die Mucosus-Form; woraus einerseits die Infektionstüchtigkeit der Mucosus-Form, deren Kulturen sich auch in der sogenannten bunten Reihe usw. wie die normalerweise beim Menschen gefundenen Wallform verhält, andererseits auch die oben bereits erwähnte Beständigkeit dieser Wuchsform, auch in der Tierpassage hervorgeht.

Breinl und Hoder berichteten 1925 über experimentelle Erzeugung von Paratyphus B-Varianten durch Bakteriophagen-Wirkung, wobei auch sie aus einem normalen, schleimwallbildenden Paratyphus B-Stamm schleimige, fadenziehende Kolonien künstlich erzeugten. Im Catalogue of the National Collection of Type Cultures des Lister-Instituts (London 1925) ist unter Nr. 267 eine von Thyötta 1920 isolierte „Mucoid variety", und unter Nr. 359 eine von Fletcher 1917 aus Urin isolierte „Mucoid capsulated variety" angeführt. Letztere (Lancet. 1918. II. p. 102) dürfte wohl auch der in dem Uebersichtsreferat von Kister angeführten Veröffentlichung Fletchers im Journ. of the Roy. Army Med. Corps Vol. 34. 1920. p. 219 über „Capsulate mucoid forms of parathyphoid and dysentery bacilli" zugrunde liegen. Nach der letzteren Mitteilung konnte Fletcher bei 2 chronischen Paratyphus B-Bakterien-Dauerausscheidern im Stuhl neben der Normalform je 1 derartige Mucosus-Form finden, ohne daß Angaben über Bakteriophagenbefunde gemacht oder ein Zusammenhang mit Bakteriophagenwirkung angenommen wird.

Bis zu meiner Mitteilung 1925 hatte ich bei 2 Personen in Aussaaten von Stühlen die von mir beschriebene natürlich vorkommende Mucosus-Form des B. paratyphi gefunden. Inzwischen konnte ich noch bei 2 weiteren Kranken den gleichen Befund erheben. Einer der erstbeschriebenen Mucosus-Form-Dauerausscheider (Frl. Pi.) hat, nach dem etwa 1 Jahr zurückliegenden 1. Befunde, auch heute noch reichlich und regelmäßig diese Mucosus-Form im Stuhl bei gleichzeitiger Dauerausscheidung von Paratyphusbakteriophagen. Taf. Fig. 1 und 2 zeigt eine unmittelbare Stuhlaussaat dieser Dauerausscheiderin auf Endo-Agar nach 24 Std. bei 37° (in auffallendem und spiegelndem Licht), Fig. 3 dieselbe Kultur nach weiteren 48 Std. bei 22°. In Fig. 1 sind neben normalen Kolonien von Paratyphus B-Bakt. zahlreiche größere Mucosus-Kolonien zu erkennen. In Fig. 3 hat ein Teil der normalen Paratyphuskolonien die bekannten, nach Herabsetzung der Züchtungstemperatur von 37° auf 18—25° auftretenden Schleimwälle (Reiner Müller 1910) gebildet; ein Teil ist aber wallos geblieben.

Auf das Vorkommen derartiger walloser Paratyphuskolonien auch bei unmittelbarer Aussaat aus menschlichen Ausscheidungen habe ich kürzlich (Münch. med. Wochenschr. 1926) hingewiesen; allerdings fand ich diese nur bei denjenigen Fällen, bei denen gleichzeitig die Mucosus-Form nachweisbar war. In der Regel wachsen ja, frisch gezüchtet, nur die normalen wallbildenden Kolonien, die so eine gute Unterscheidung gegenüber dem nichtwallbildenden Bac. enteritidis Breslau-Aertrycke ermöglichen. Die von mir bei Mucosusformausscheidern unmittelbar isolierte, oder die in Galle aus der Mucosus-Form abgespaltene wallfreie Form des Paratyphus B-Bakteriums ist demnach keineswegs mit dem B. enter. Breslau-Aertrycke identisch, von dem sie sich u. a. noch durch die fehlende Mäusefütterungspathogenität und durch die Knopfbildung auf Raffinoseagar (Reiner Müller 1908) sehr wohl abtrennen läßt.

Ueber das Auffinden des B. paratyphi B-Mucosum im Blut des Menschen ist mir keine Mitteilung bekannt geworden. Ein derartiger Stamm ist auch in dem Sammlungsverzeichnis des Lister-Instituts nicht angeführt. Bei einer Kranken (Frl. Da.), die im April 1926 unter den klinischen Erscheinungen des Typhus erkrankte, dann auffallend rasch, im Verlaufe von etwa 7—10 Tagen entfieberte und genas, dürfte erstmalig die Züchtung der Mucosus-Form Bact. paratyphi B aus dem Blut, und ihre Erkennung als solche gelungen sein.

Es sei aber die Möglichkeit eingeräumt, daß bereits früher aus Blutkulturen derartige oder ähnliche Mucosus- oder Kapselbakterien gezüchtet wurden, die aber, ohne Kenntnis der Erscheinungen der d'Herelleschen Bakteriophagenwirkung und ohne Benutzung der von mir angewandten Normalisierung durch Galle nicht als zur Normalform gehörig, z. B. nicht als Paratyphuskeime, erkannt wurden. Die unserem Institut zur Untersuchung eingesandten Proben verdanke ich der Medizinischen Universitäts-Klinik Köln-Lindenburg (Geh. Rat Prof. Dr. Moritz). Von der unter klinisch typhösen Erscheinungen: Temperatursteigerung, eben fühlbarem Milztumor, Leukopenie usw. erkrankten 20jähr. Da. wird dem Untersuchungsamt des Instituts in den ersten Krankheitstagen Blut, Blut in Bouillon, Stuhl und Harn zur serologischen und bakteriologischen Untersuchung eingeschickt (B.-Nr. 201685). Die Gruber-Widalsche Reaktion des Serums mit Typhus- und Paratyphusbakterien ist 1:50 negativ, sowohl bei dieser (22. 4.), als bei zwei weiteren serologischen Untersuchungen, auch mit dem Eigenstamm, während (26. 4.) und nach der Entfieberung (1. 5.) Im mehrfach untersuchten Stuhl und Harn wurden Typhus- oder Paratyphusbakterien, wenigstens in ihrer gewohnten Wuchsform, nicht gefunden.

Die Aussaat aus der mit dem eingeschickten Blute (Blutkuchen + Serum) in Rindergalle angelegten Blutkultur ergab bereits nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt bei 37° üppiges Wachstum völlig schleimiger Kolonien, die der früher von mir experimentell erzeugten oder der bei Dauerausscheidern und Kranken unmittelbar im Stuhl gefundenen Mucosus-Form des B. paratyphi B so glichen, daß ich sie als irgendeine unter Bakteriophageneinfluß entstandene Mucosus-Form ansah; was durch die Gallepassage bestätigt wurde.

Besser als lange Beschreibungen dürften die nachstehenden Lichtbilder die Befunde wiedergeben:

Fig. 3. Aussaat aus Blutgallekultur nach 24 Std. bei 37° auf Agarplatte. Aufnahme in spiegelnd schräg auffallendem Licht: Wachstum von Mucosus B. paratyphi B. Lichtreflexe auf den schleimig feuchten, stark erhabenen Kolonien. Die Form einzelner Mucosuskolonien ist in Fig. 19 noch besser sichtbar.

Fig. 5. Aussaat aus gleicher Blutgallekultur nach 30 Std. bei 37°; aber im durchfallenden Licht: Neben dem dunkel erscheinenden über-

wiegenden Mucosus-Wachstum, bereits einzelne, durchsichtigere ((helle) nichtschleimige Kolonien.

Fig. 6. Aussaat nach 48 Std. bei 37° auf Endo-Agar; durchfallende Beleuchtung: noch überwiegend die großen Mucosus-Kolonien; die kleineren Nichtmukösen aber bereits reichlicher.

Fig. 7. Dieselbe Endo-Platte wie 6, aber noch 24 Std. bei 22° gehalten; auffallendes Licht: deutlicher Unterschied zwischen der in dieser Beleuchtung hell erscheinenden Mucosus-Form und den grauer erscheinenden nichtmukösen Kolonien. Bei wenigen dieser Nichtmukösen ist die für den gewöhnlich aus menschlichem Material gezüchteten Paratyphus B-Kolonientyp charakteristische Schleimwallbildung eingetreten, die in

Fig. 8, im durchfallenden Lichte aufgenommen, teilweise deutlicher hervortritt: Also 3 Wuchstypen von Kolonien des gleichen Bakteriums aus derselben Blutgallekultur!

Fig. 9. Aussaat nach 72 Std. bei 37°. Unter Einfluß der Galle ist die Zahl der Mucosus-Kolonien (dunkel) geringer geworden; die nichtmukösen Formen (hell) überwiegen jetzt.

Fig. 10. Aussaat nach 4 Tagen auf Nähragar 24 Std. bei 37° und dann 24 Std. bei 22°; durchfallendes Licht: überwiegend wallose nichtschleimige Kolonien (hell), ganz spärlich Schleimwallkolonien, spärlich Mucosus-Kolonien (dunkel).

Fig. 11. Aussaat nach 6 Tagen; Agarplatte 24 Std. bei 37° dann 24 Std. bei 22°, durchfallendes Licht: im Ausschnitt der Aufnahme nur noch 2 Mucosus-Kolonien (dunkel), sehr spärlich Wall-Form, überwiegend wallfreie Form (hell)!

Fig. 12. Dieselbe Kultur wie 11, aber auffallendes Licht; die 3 Kolonienformen: Mucosus- (hell), Wall-(mit hellem Saum) und die stark überwiegende wallfreie Form der Paratyphuskolonien sind gut unterscheidbar. Auf die bildliche Wiedergabe der Schleimwallkolonien in stärkerer Vergrößerung glaube ich hier verzichten zu können, da sie bereits mehrfach in diesem Centralbl. in guten Lichtbildern wiedergegeben (zuletzt u. a. von Graetz Bd. 97. 1926. Beih. S. 279) und wohl auch allgemein bekannt sind.

Fig. 13. Aussaat nach 7 Tagen bei 37°. Agarplatte 24 Std. bei 37°, dann 24 Std. bei 22°; durchfallendes Licht: nur noch 2 Formen, spärlich Mucosus-, überwiegend wallfreie Kolonien.

Bei Aussaat aus der Galleblutkultur nach 8 Tagen wachsen nur noch wallose Paratyphus B-Kolonien.

Experimentell konnte ich früher aus einem normalen schleimwallbildenden Bact. paratyphi B unter Bakteriophageneinwirkung eine konstante Mucosus-Form züchten, die sich durch Bakteriophagenausschaltung (oder -Hemmung) durch Galle in die dritte Form, die wallose Paratyphus B-Form umwandeln ließ. Die Umwandlung von Schleimwallform in die wallfreie gelang mir so nur auf dem Umwege über die Mucosus-Form. Daß nach längerer Zeit sich aus alternden Kulturen der Paratyphus B-Schleimwallform auch wallose Kolonien abspalten lassen, ist ja seit langem bekannt (Reiner Müller 1910). Die gleichen Verhältnisse, wie bei diesen experimentellen Untersuchungen, haben sich hier bei dem aus diesem Krankheitsfalle unmittelbar gezüchteten Mucosus-Stamme vollzogen: Unter dem Einfluß der Galle-Kultur hat sich zuletzt (am 7. Tag) nur die wallfreie Form behaupten können, während sich aus der

Blutgallekultur von der 30. Std. bis zum 6. Tage alle drei Kolonienwuchsformen von den Aussaatkulturen abimpfen ließen.

Die 3 Formen: Wall-Form (I), Mucosus (II) und Wallfreie (III) verhalten sich hinsichtlich Gasbildung in Neutralrottraubenzuckeragar, Nichtrötung von Lackmusmolke und fehlender Indolbildung in Trypsinbouillon usw. gleich. Im Mäusefütterungsversuch mit den drei Formen gingen die Versuchstiere bei 3wochenlanger Beobachtung nicht ein. Am beweglichsten sind die Bakterien der Wallform, etwas weniger diejenigen der wallosen, wesentlich geringer die der Mucosus-Form. Schleimwallbildung auf Nähragar, Endo-Agar und Malachitgrünagar zeigt nur die Wallform (I). Die folgenden Bilder zeigen das Wachstum der 3 Formen auf je einem Drittel derselben Nähragarplatte mit 1 Proz. Raffinose, ein Nährboden, wie er von Reiner Müller zur Prüfung der sogenannten Knopfbildung bereits 1908 angegeben wurde und der neuerdings auch von Uhlenhuth und Seiffert als Unterscheidungsmittel zwischen Breslau-Aertrycke-Bakterien und humanen Paratyphus B-Bakterien anerkannt worden ist. Abbildung in etwa doppelter Größe:

Fig. 14. Typ I: Schleimwallform 3 Tage bei 37°. In schräg-auffallendem, spiegelndem Licht photographiert. Starke Knöpfchenbildung.

Fig. 15. Typ III: wallfreie Form. Ebenfalls deutliche und gleichstarke Knöpfchenbildung. Hierdurch gute Unterscheidung gegenüber Kolonien von B. ent. Breslau-Aertrycke.

Fig. 16. Typ II: Mucosus-Form auf derselben Raffinoseplatte und gleichlange bei 37° gewachsen; keine deutliche Knöpfchenbildung, sondern Wachstum am 1. und 2. Tag vollkommen feuchtschleimig, am 3. Tag beginnt, wie das Bild erkennen läßt, eine Austrockung in der Mitte des Rasens.

Auffallend war das Verhalten der 3 Formen gegenüber einem Laboratoriums-Paratyphus-Bakteriophagen, den ich in der früher beschriebenen Weise (Münch. med. Wochenschr. 1925), in Glasampullen eingeschmolzen, in der Bakteriophagensammlung des Instituts aufbewahrt hatte: Die Mucosus-Form (II) wird durch diesen Laboratoriumsbakteriophagen nicht angegriffen; die Wall-Form (I) und die Nichtwall-Form (III) dagegen gut. Breslau-Aertrycke-Bakterien werden von diesem Bakteriophagen nicht angegriffen.

Fig. 17 zeigt (im bekannten Auftropfverfahren) die Wirkung von 2 Tropfen des Bakteriophagen auf die auf eine Agarplatte ausgespatelte Wall-Form: Phagstreifen mit einzelnen kümmerlichen Flatterformen.

Fig. 18 zeigt die Wirkung desselben Paratyphusbakteriophagen auf die wallfreie Form (III). Es ergab sich dabei zunächst das Ueberraschende, daß in den Phagstreifen der wallfreien Form einige resistente Keime in auffallend großen Kolonien wuchsen, ausgesprochen schleimig: die Mucosusform. Sie läßt sich von diesen Kolonien auch durch viele Passagen weiterimpfen, wobei sie dauernd den starkschleimigen Wuchscharakter des Typs II beibehält. Nach der früheren experimentellen Erzeugung von Mucosus-Formen aus anderen Paratyphus B-Normalformen, Schleimwallformen, wäre eher in den Phagstreifen auch dieser Wall-Form (Fig. 17) eine Entstehung der Mucosus-Form zu erwarten gewesen. Ein Einwand, der ausgespatelte wallfreie Stamm sei nicht rein gewesen, sondern habe bereits spärlich Mucosus-Keime enthalten, die dann ungehemmt im Raume des Phag-

streifens als unspezifisch phagfest zu Mucosus-Kolonien auswachsen konnten, während sie im übrigen Rasen des wallosen Paratyphus B nicht in Erscheinung treten, ist aus vielen Gründen, auf die ich der Kürze wegen einzugehen mir versagen muß, abzulehnen. Daß durch die Bakteriophagenmethode Bakteriengemische getrennt werden können, oder daß eine Verunreinigung mit einer phagfesten Form oder mit anderen, von dem benutzten Bakteriophagen nicht phagierbaren, Keimen erkannt werden kann, habe ich bereits (Münch. med. Wochenschr. 1925) angegeben und an praktischen Beispielen und Originalkulturen gezeigt.

Fig. 18 im schrägdurchfallenden Licht aufgenommen, läßt deutlich die Mucosus-Kolonien (II) im Phagstreifen des Bakterienrasens der wallosen Paratyphusform (III) erkennen. Noch deutlicher zeigt

Fig. 19, vergrößert und in spiegelndem Lichte aufgenommen, die feuchtschleimigen, gewölbten Mucosus-Kolonien gegenüber dem matten Rasen der Umgebung. Abimpfung von dieser Platte auf Agar- und Endo-Agarplatten ergaben:

1) vom ausgespatelten Rasen: konstant wallos wachsende Keime (III). — 2) Von den Mucosus-Kolonien: nur Mucosus-Form (II). — 3) Von den im Phagstreifen nur als leuchtende kleine Punkte sichtbaren Kolonien: nur ausgesprochene Flatterform (wallos). — 4) Von kolonienlosen Streifenstellen: kein Wachstum.

Diese hier abgebildete Umwandlung der wallosen in die Mucosus-Form durch Phag-Einwirkung, dann dieser Mucosus-Form durch Phag-Ausschaltung in Galle zurück in die wallose Form konnte mehrfach wiederholt werden. Bei dem von Fletcher (1920) beschriebenen 2maligen Befund von Paratyphus B-Mucosus-Form aus Stuhl konnte er durch Züchtung in 1proz. Peptonwasser den Beginn der Abspaltung von nichtschleimigen agglutinablen Formen erreichen. Fl. glaubt dabei eine Normalform zu erhalten, die allerdings mehr granuliert wächst und mikroskopisch Involutionsformen enthält. Eine Prüfung auf Schleimwallbildung scheint von ihm nicht angestellt worden zu sein. Während es aber Fl., der bei seinen Befunden nichts über Bakteriophagen erwähnt, auf keine Weise gelang, diese Umwandlung von der Mucosus- in die Nichtmucosusform rückgängig zu machen, ist mir dieses, wie die oben erwähnten mehrfachen Versuche ergaben, durch Phagwirkung in einfachster Weise gelungen.

Bemerkenswert war auch das Verhalten der Blutkultur in Bouillon, die, in der Klinik angelegt, dem Institut gleichzeitig mit der oben genannten Blutprobe (Nr. 201685) zuging. Der Blutkuchen war gut abgesetzt, die Bouillon klar. Auch nach 24 Std. bei 37° und nach 48 Std. bei 37° zeigte die Bouillon keine Trübung; Abimpfungen auf Platten nach 24 Std. und 48 Std. blieben ohne Wachstum! Da inzwischen schon aus der Blutkultur in Galle die beschriebene Mucosus-Form gezüchtet war, untersuchte ich nach Durchrühren des Blutkuchens eine Oese der Bouillon im hängenden Tropfen, trotz Klarbleibens der Bouillon und trotz Sterilbleibens der Subkulturen waren im hängenden Tropfen spärlich mäßig bewegliche stäbchenförmige Bakterien erkennbar. Nach Zerteilen und Aufrühren des Blutkuchens in der Bouillonkultur tritt bei Subkultur nach 72 Std. Wachstum von Paratyphuskolonien (Mucosus-Form) ein. Auch in der Bouillonkultur

ergaben dann von Tag zu Tag vorgenommene Aussaaten auf Agarplatten eine allmähliche Zunahme der daraus wachsenden nichtmukösen Kolonien und eine Abnahme der mukösen.

Das Ergebnis der Untersuchungen auf Bakteriophagenanwesenheit im Kranken (D.) war folgendes:

Zum Auftropfversuch auf Agarplatten ausgespatelte Bakterienstämme	Auf Bakteriengehalt untersuchtes Material (24 und 48 Std. Bouillonkultur 37°, filtriert oder 56° erwärmt)			
	Stuhl (Da)	Harn (Da)	Blut (Da)	B. paratyphi B Mucosum (Typ. II)
D. I Schleimwallform	—	+	+	+
D. II Mucosus-Form	—	—	—	—
D. III wallfreie Form	—	+	+	+
Lab.-St. B. paratyphi B	—	+	+	+
„ „ enterit. Breslau	—	—	—	—
„ „ typhi murium	—	—	—	—
„ „ „ hominis	—	—	—	—
„ „ enterit. Gärtner	—	—	—	—
„ „ dysent. Flexner	—	—	—	—
„ „ „ Shiga-Kruse	—	—	—	—
„ „ „ y	—	—	—	—

Daraus ergibt sich: 1) Bakteriophagen waren in der mit dem Blute der Kranken, das die Mucosus-Form enthält, angelegten Bouillonkulturen anwesend. 2) Ausscheidung von Paratyphus B-Bakteriophagen mit dem Harn, in dem aber Paratyphusbakterien nicht gefunden wurden. 3) Aus Bouillonkulturen der Mucosus-Form ist nach Filtration durch Seitz-Filter, oder nach Auszentrifugieren und 30 Min. Erwärmen bei 56° der gleiche Paratyphusbakteriophage nachweisbar. Um Einwendungen zu begegenen, sei hier bereits gesagt, daß ich mich in sehr zahlreichen Untersuchungen über Bakteriophagen während der letzten Jahre bisher nicht von einer „kryptogenetischen" Entstehung von Bakteriophagen habe überzeugen können; auch nicht aus sogenannten Bakterienreinkulturen, wie sie von manchen Forschern immer noch angenommen wird. Ueber die Infektionsquelle war bei dieser Kranken nichts zu ermitteln; auch erschien es fraglich, ob die Infektion erst kurz vor der sichtbar werdenden fieberhaften Reaktion erfolgt war, oder nicht bereits längere Zeit zurücklag. Auffallend war der leichte Krankheitsverlauf mit rascher Entfieberung, nach der auch bereits wenige Tage später keine Erreger mehr, wenigstens keine in der gewohnten Weise züchtbaren, sichtbaren Formen nachgewiesen werden konnten.

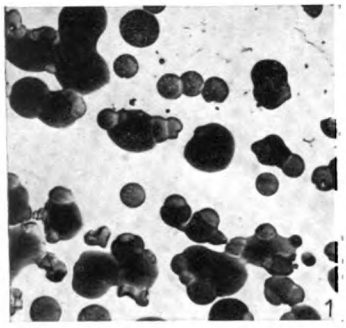
Auf die Beziehung der visiblen Varianten, wie sie unter Phagwirkung entstehen, zu den von E. Friedberger u. a. nachgewiesenen filtrierbaren Formen, wie sie ja gleichfalls unter Bakteriophageneinfluß entstehen sollen (Bronislawa Fejgin) möchte ich an dieser Stelle nicht näher eingehen.

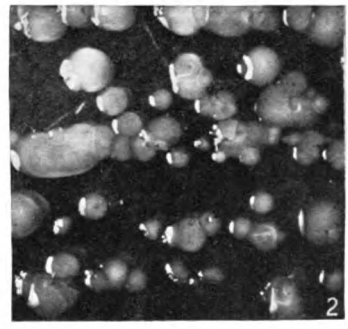
Zusammenfassend läßt sich feststellen:

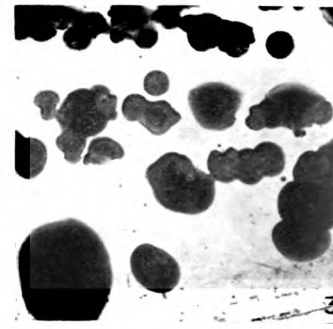
1) Die bisher nur in Stuhl von Paratyphuskranken und -Dauerausscheidern gefundene Mucosus-Form des Bac. paratyphi B hominis (Fletcher, Sonnenschein) ist bei einer Paratyphuskranken in den ersten Krankheitstagen aus dem Blute, und zwar nur aus dem

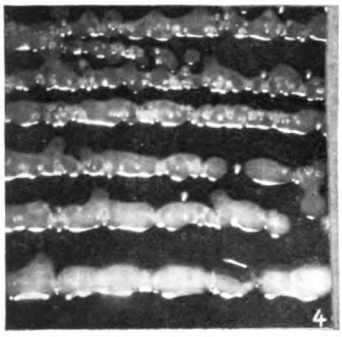
Blute gezüchtet worden. — 2) Die Blutkultur in Rindergalle hat sich hierbei der Bouillonkultur als zeitlich überlegen erwiesen. Diese Ueberlegenheit dürfte hier, wenigstens teilweise, auf der von mir früher schon festgestellten Hemmung der Bakteriophagenwirkung durch Galle beruhen. — 3) In dem Blute der Kranken, das das Mucosus B-Bakterium enthielt, wurde ein auf Paratyphusbakterien (Normalform) wirksamer Bakteriophage nachgewiesen, der sich auch aus der Mucosus-Kultur selbst (in Bouillon) gewinnen ließ. — 4) Im Harn der Kranken fand sich der Paratyphusbakteriophage; im Stuhl wurde er nicht nachgewiesen. Visible und normalzüchtbare Paratyphusbakterien wurden im Stuhl und Urin nicht gefunden. — 5) Die Mucosus-Form des Paratyphuserregers läßt sich, ebenso wie ich dies für andere stark schleimig wachsende, bisher sogenannte Kapselbakterien sehr häufig nachweisen konnte (sogenannte Bac. muc. Abel, Corynebac. equi und sonstige Schleimkapselbakterien), durch Züchtung in Galle (von Rind, Schwein, Mensch) in die zugehörige, nichtschleimige, meist agglutinable Form überführen. Die Umzüchtung der Mucosus-Form in die nichtmukös wachsende Form vollzieht sich in der Galle meist im Verlaufe von einigen Tagen, wobei in Aussaaten aus der Galle sich die Zahl der Mucosus-Kolonien mehr und mehr verringert, die der nichtmukösen entsprechend zunimmt. — 6) Durch den Aufenthalt in der bakteriophagenhemmenden Galle entsteht schließlich aus der Mucosusform von Paratyphuskeimen nicht die normale schleimwallbildende Form, wie sie gewöhnlich aus Blut und Ausscheidungen kranker Menschen gezüchtet wird, sondern eine nichtwallbildende, agglutinable, schleimlose Form. Diese schleimwallose Form des Bac. paratyphi B wurde im vorliegenden Falle bereits aus der 30 Std. alten Blutgallekultur in vereinzelten Kolonien nachgewiesen. Sie konnte durch Einwirkung eines Paratyphus B-Bakteriophagen wieder in die Mucosus-Form zurückverwandelt werden. — 7) Diese in wallosen Kolonien wachsenden Formen des B. p. B., wie ich sie früher bei einer Paratyphus B-Bakterien- und -Bakteriophagen-Dauerausscheiderin (Frl. Pi.) bereits in der unmittelbaren Stuhlaussaat neben Wall- und Mucosus-Form fand (Fig. 1, 2 und 3), ist jedoch nicht identisch mit dem ähnlich wachsenden und ähnlich agglutinierbaren Bac. enteritidis Breslau-Aertrycke. Abgesehen vom Mäusefütterungsversuch gestattet die von Reiner Müller als für B. p. B. charakteristisch beschriebene Knopf-Bildung in Riesenkolonien auf 1 Proz. Raffinoseagar, die dem B. Breslau fehlt, eine für praktische Zwecke hinreichende Unterscheidung. — 8) Unter Einwirkung eines besonders angepaßten Laboratoriumsparatyphus B-Bakteriophagen, der auch eine experimentell gezüchtete Mucosus-Form von B. p. B anzugreifen vermochte, gelang es, aus der Mucosus-Form die normale, schleimwallbildende Form zu erhalten. Die Umwandlung der Wallform

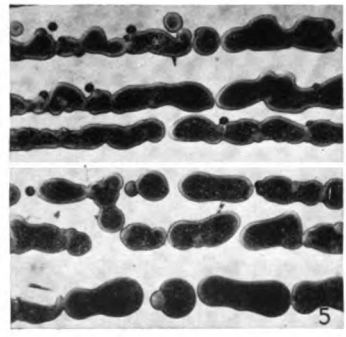
THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

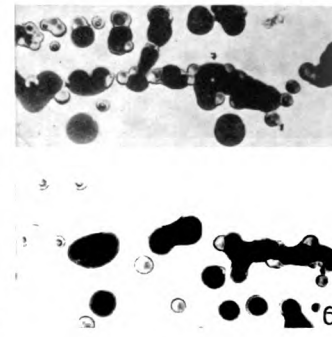

1

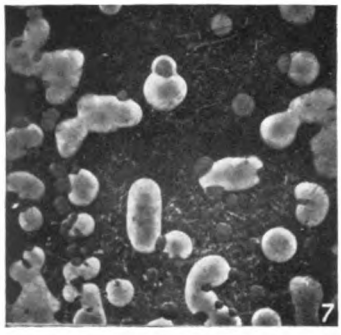

2

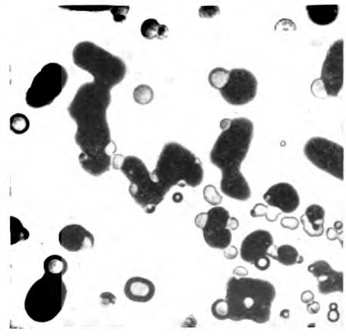

3

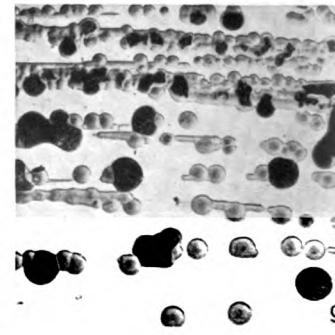

4

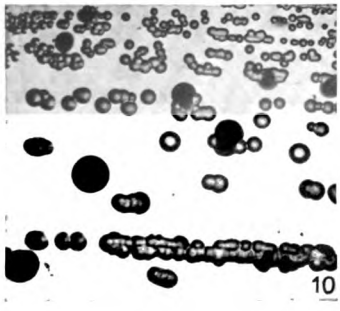

5

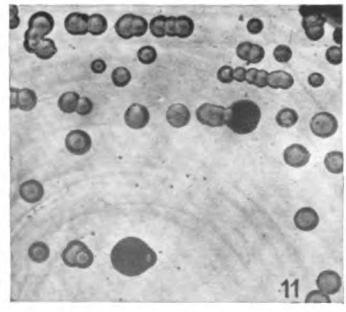

6

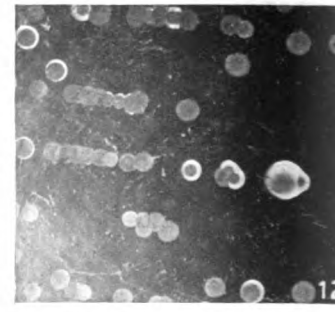

7

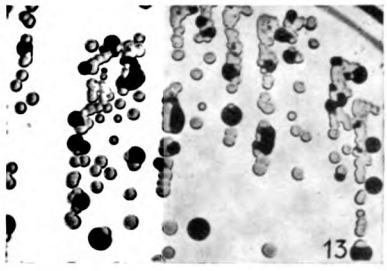

8

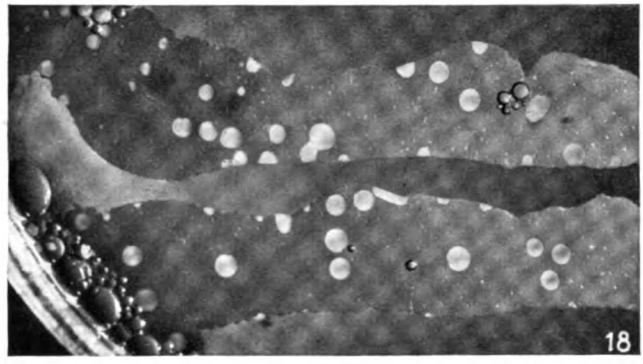

9

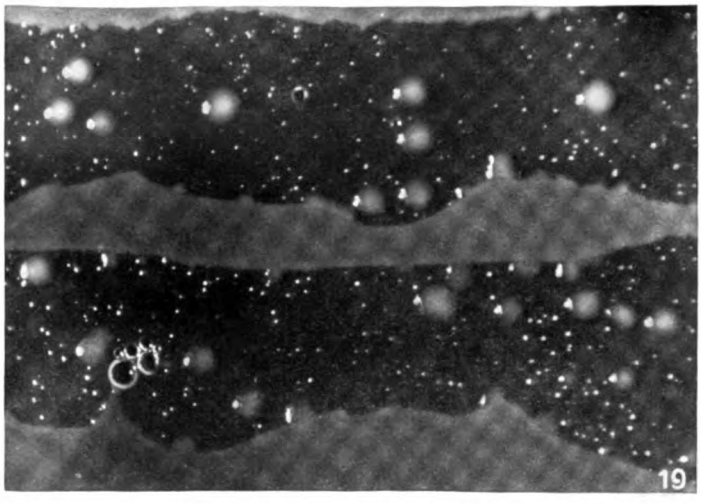

10

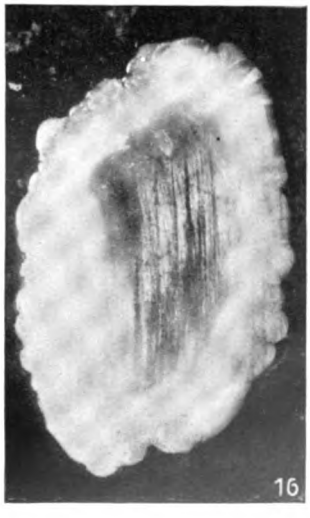

11


12









r Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

in die wallfreie konnte somit auf dem Umwege über die Mucosus-Form erfolgen. — 9) Die wechselweise Umwandlung der 3 beschriebenen und gezüchteten Wuchsformen des B. p. B ineinander ist experimentell durch Bakteriophagen-Einwirkung einerseits und -Ausschaltung (z. B. durch Galle) andererseits möglich. — 10) Bei dem in wenigen Tagen fieberfrei werdenden und in Heilung übergehenden günstigen Krankheitsverlauf konnten Untersuchungen auf etwaige filtrierbare und unzüchtbare Erregerformen im Sinne E. Friedbergers, die bei dem erfolgten Bakteriophagennachweis nahe lagen, nicht angestellt werden. Mit dem Vorkommen atypischer Erregerformen, wie z. B. der von mir beschriebenen Mucosus-Form des B. paratyphi B, ist beim Menschen, namentlich bei Bakteriophagenanwesenheit, nicht nur in Ausscheidungen, sondern auch im Blute zu rechnen. Es wird empfohlen, als Krankheitserreger gefundene oder verdächtige Mucosusformen mittels der angegebenen Züchtung in Galle durch Abspaltung in schleimlos wachsende, meist agglutinierbare Formen umzuwandeln, die damit leichter als bekannte Erreger in typischer Wuchsform erkannt werden können.

Literatur.

Catalogue of the National Collection of Type Cultures. (Lister Instit. London. 1925.) — Fletcher, William, Journ. Roy. Army Med. Corps. Vol. 34. 1920. p. 219. — Friedberger, E., Klin. Wochenschr. Bd. 18. 1926. S. 782. — D'Herelle, Fr., „Der Bakteriophage". Braunschweig. Vieweg u. Sohn. 1922. — Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1908. Beiheft. S. 57. Münch. Med. Wochenschr. 1909. S. 885; Dtsch. med. Wochenschr. 1910. H. 51; Münch. med. Wochenschr. 1914. S. 471. — Sonnenschein, Curt, Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 1443; Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 1434; Münch. med. Wochenschr. 1926; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. Beih. S. 312. — Uhlenhuth u. Seiffert, Dtsch. med. Wochenschr. 1926. S. 738.

Nachdruck verboten.

Bakteriophage und hämolytisches Endotoxin des Cholera-Vibrio.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Amsterdam.]

Von Prof. Dr. **J. J. van Loghem**, Amsterdam.

Die Untersuchungen, welche ich im Laufe der Jahre über die Wirkung von Vibrionen und anderen Bakterien auf Blut veröffentlicht habe, bezogen sich zum Teil auf die Frage, ob die von F. Gotschlich 1905 in Tor isolierten Vibrionen zur Spezies Vibrio cholerae gehören; zum Teil deuteten sie daraufhin, daß die bakteriellen Umsetzungen von Blut im Wesen verschieden sein können und daß es nötig ist, Hämolyse von Hämodigestion zu trennen.

Was den 1. Punkt, die Artbestimmung des Vibrio tor anbelangt so bin ich zur Auffassung gekommen, daß Vibrio tor und Vibrio cholerae in wichtigen Eigenschaften voneinander verschieden sind,

so daß man, trotz ihrer antigenen Verwandtschaft, gezwungen ist, diese 2 Organismen als Repräsentanten zweier Spezies zu unterscheiden. Insbesondere sei hervorgehoben, daß, wie Lampe und ich bewiesen haben, das hämolytische Vermögen dieser beiden Vibrionen nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ voneinander verschieden ist.

Vibrio tor ist stark hämolytisch, Vibrio cholerae nur schwach. Bei Vibrio tor tritt die Hämolyse sehr rasch auf, bei Vibrio cholerae sehr spät. Wir fanden z. B., daß ein Tropfen Ziegenblut in 3tägigen Bouillonkulturen von Torvibrionen durchschnittlich schon nach $3^1/_2$ Std. Blutfarbstoff heraustreten läßt, in Cholerakulturen desselben Alters aber erst nach ungefähr 8 Tagen.

Aber neben diesem quantitativen Unterschied stellten wir fest, 1. daß das kräftige und rasch wirkende Torhämolysin thermolabil ist (nach 1 Std. bei 65° C ist seine Wirkung aufgehoben), im Gegensatz zum Cholerahämolysin, 2. daß gegen das Torhämolysin ein Antihämolysin zu bereiten ist, während das Cholerahämolysin nicht antigen wirkt.

Daraus ergab sich die weitere Folgerung, daß der Tor-Vibrio ein hämolytisches Exotoxin produziert, während bei der Hämolyse welche von alten Cholerakulturen hervorgerufen wird, ein hämolytisches Endotoxin im Spiele ist.

Die Mitteilungen über den sogenannten Bakteriophagen und die von diesem abhängigen Immunitätserscheinungen führten mich zur Frage, ob dieses lytische Agens imstande sei, das Endotoxin des Cholera-Vibrio rascher zum Vorschein zu bringen, als dies bei den gewöhnlichen autolytischen Vorgängen in Kulturen ohne Bakteriophagen geschieht. Zur Beantwortung der Frage nahm ich 2 mit der gleichen Nährbouillon gefüllte Kolben; in beiden wurde die Nährflüssigkeit schwach trübe gemacht durch Zusatz einer Suspension junger Choleravibrionen; zu einem der beiden Kolben wurden Cholerabakteriophage[1]) hinzugefügt. Beide Kolben wurden 6 Std. bei 37° gehalten und ihr Inhalt nachher filtriert (F_1).

Diese Beimpfung und Filtration der beiden Kolben mit und ohne Bakteriophagen wurden 4mal wiederholt F_2, F_3 F_4, F_5) in Zwischenräumen von mehreren Tagen, welche zur Kontrolle der Sterilität benutzt wurden.

Die Filtrate F_5 blieben nach Beimpfung 24 Std. im Brutschranke. Die hiervon gewonnenen Filtrate (F_6 mit und ohne Bakteriophagen) wurden schließlich auf ihr hämolytisches Vermögen gegenüber Ziegenblut in je 4 Proben untersucht.

Die Resultate waren eindeutig: In den Proben F_6 „mit Bakteriophagen" erschien eine kräftige Hämolyse nach 5 oder 6 Tagen; die Röhrchen mit den autolytischen Filtraten zeigten erst nach 8 oder 9 Tagen die erste Andeutung einer Hämolyse.

Der „Bakteriophage" befördert also das Freiwerden und Erscheinen des hämolytischen Cholera-Endotoxins.

Diese neuen Versuche bestätigen zugleich unsere, auf frühere Erfahrungen begründete Auffassung, wonach die Spät-Hämolyse, die der Choleravibrio auslöst, abhängig ist von einer Substanz, welche nur schwer vom Bakterieninnern zu trennen ist, und die sich dadurch qualitativ

1) Dieser Cholerabakteriophage mit zugehörigem Stamm 22 wurde in freundlichster Weise zu meiner Verfügung gestellt von Prof. P. C. Flu, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

von der von Tor- und Wasservibrionen hervorgerufenen Hämolyse unterschieden, welche von einem thermolabilen, antigenen Exohämolysin abhängig ist. In untenstehender Tabelle findet man die Eigenschaften von Vibrio cholerae, Vibrio tor und Vibrio Dunbar (als Repräsentant der Wasservibrionen) übersichtlich dargestellt.

Art	Form	Gram	Agglutination mit Cholera-serum	Pfeiffers Phänomen m. Cholera-serum	Gelatine verflüssigt (frischer Stamm)	Hämo-digestion (frischer Stamm)	Exo-hämolysin	Giftigkeit (Exotoxin)	Endo-hämolysin
V. cholerae	Vibrio	—	+	+	+	+	—	—	+
V. tor	„	—	+	+	+	+	+	+	+
V. dunbar (Wasser-vibrio)	„	—	—	—	+	+	+	+	+

Literatur.

J. J. van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911; Bd. 67. 1913' Bd. 70. 1913; Ned. Tydschr. Geneesk. II. 1915; Versl. Kon. Akad. Wet. Wis. en Nat. Afd. 1920; Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 29. (Beih. 1) 1925. — P. H. J. Lampe, Inaug.-Diss. Amsterdam 1922.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Serumtherapie des Scharlachs.

[Aus dem Bakteriologischen Staatsinstitut und Universitätslaboratorium zu Smolensk (Dir.: Prof. Dr. M. Isabolinsky).]

Von **M. Isabolinsky** und **S. Tschernischoff.**

Die Frage der Serumtherapie des Scharlachs ist bis heute, trotz zahlreichen Angaben amerikanischer Forscher hierüber, noch nicht gelöst.

Die bisher hergestellten Heilsera richten sich gegen den Streptokokkus, dem die dominierende Rolle in der Aetiologie des Scharlachs zugeschrieben wird.

Einige Forscher, die in dieser Krankheit eine allgemeine Toxikose erblicken, bereiten antitoxische, andere wiederum antibakterielle und schließlich eine 3. Gruppe Sera, die gleichzeitig antitoxische und antibakterielle Eigenschaften besitzen.

Die meisten Sera unterscheiden sich vom Moserschen Serum nur wenig und bewirken eine Temperaturerniedrigung, Erlöschen des Ausschlages, Besserung des Pulses und des Allgemeinbefindens.

Seit zwei Jahren stellen wir ein Scharlachheilserum her. Die Resultate, die wir mit diesem Serum erzielt haben, erlauben wir uns nachstehend mitzuteilen.

Zur Immunisierung der Pferde benutzten wir 12 verschiedene Streptokokkenstämme, von denen 10 Scharlachstreptokokken und 2 Erysipelstreptokokkenstämme waren. Die 10 Scharlachstreptokokken waren teils aus dem Blute, Nasenrachenraum von Scharlachkranken und aus den Herzen von Leichen, teils aus dem Eiterfluß bei Otitis media oder Mastoiditis gezüchtet.

Alle diese Streptokokken waren auf Martin-Bouillon unter Zusatz von 1proz. Zuckerlösung gezüchtet. Die Bouillonkultur verblieb während 4—5 Tagen im Thermostat bei 37°, in der Voraussetzung, daß diese Zeitperiode genügt, um eine ausreichende Toxinmenge im Bouillon zu produzieren.

Zuerst immunisierten wir Pferde subkutan mit abgetöteten Streptokokkenkulturen, dann gingen wir zur virulenten Bouillonkultur mit gleichzeitigem Toxingehalt über, wobei wir eine komplizierte Immunisierung mit Bakterien und ihren Toxinen erzielten. Die Immunisierung geht sehr vorsichtig vor sich: von kleinen Dosen 0,3—0,5 ccm am Anfang bis zu größeren Dosen von 80—100 ccm am Ende der Immunisierung.

Die Immunisierung dauerte 5 Monate bei 6—8tägigen Abständen zwischen den einzelnen Einspritzungen. Bei der Steigerung der Dosis wird die Reaktion des Pferdes nach der letzten Einspritzung stets genau berücksichtigt. Oft beobachteten wir bei Pferden eine größere Temperaturerhöhung, bis zu 39—40°, Arthritiden und Abszesse in den Injektionsstellen. 9—10 Tage nach der letzten Immunisierung entnahmen wir den Pferden 6—8 Liter Blut, um nach einer Ruhepause die Hyperimmunisierung mit größeren Dosen einer Streptokokkenbouillonkultur fortzusetzen. Weitere Blutentnahmen erfolgten bei den Pferden jeweils nach 2 Monaten.

Das gewonnene Serum bekam die Fähigkeit, die obengenannten Streptokokkenstämme bis zur Verdünnung 1:600—800 und die Erysipelstämme bis zur Verdünnung 1:200 zu agglutinieren.

An einem Material von 120 Scharlachfällen konnten wir die Wirkung des Serums systematisch verfolgen.

Die Fälle lassen sich in folgende Gruppen einteilen: 29 toxische Formen, 24 lokale Formen, 49 gemischte, 15 septisch-toxisch, 6 unklare Formen.

In den 29 schweren toxischen Fällen bekamen wir einen vollständigen Effekt mit kritischem Abfall der Temperatur, Besserung des Pulses und des Allgemeinbefindens, Verschwinden des Ausschlages und vollkommener Erholung. Die subkutane Einführung des Serums in Mengen von 30—100 ccm (je nach dem Alter und der Schwere der Erkrankung) erfolgte in diesen Fällen nicht später als am 3. bis 4. Krankheitstage.

8 von 21 Scharlachfällen zeigten gleichfalls einen Effekt, während in 13 Fällen eine Wirkung nicht zu erkennen war. In allen diesen Fällen war indes das Serum am 6., 7. und sogar am 10. Krankheitstag angewendet worden. In diesen Fällen wurde das Serum in Mengen von 50—100 ccm gegeben.

In 19 von den 49 gemischten Formen, bei denen das Serum vor dem 4. Krankheitstag verabfolgt war, äußerte es eine günstige Wirkung; in 30 Fällen, bei denen das Serum nach dem 4. Erkrankungstag angewendet worden war, blieb jede Wirkung aus. Ueberall verwendeten wir 40—100 ccm.

In 14 von den 15 septisch-toxischen Scharlachformen wurde kein Heileffekt durch die Serumanwendung erzielt.

Von 6 unklaren Fällen endlich geben 3 ein positives und 3 ein negatives Resultat. In diesen Fällen war das Serum vom 3. bis zum 7. Erkrankungstag in gewöhnlichen Dosen verabfolgt worden.

Wir sehen daraus, daß der beste Heileffekt bei den rein toxischen Formen (100 Proz.) beobachtet wurde. Das Heilresultat war so beweisend, daß die Eltern der kranken Kinder dringend die Injektion verlangten.

Umgekehrt, ganz wirkungslos erwies sich das Serum in Fällen von septisch-toxischen Scharlachformen.

In den Mischformen konnten wir neben negativer Wirkung auf den Krankheitsverlauf in manchen Fällen doch eine partielle und zweifelhafte Wirkung feststellen.

Es traten keine Komplikationen auf, die der Anwendung des Serums zugeschrieben werden konnten. Nur einzelne Fälle von Serumkrankheit, die höchstens 4 Std. dauerte, wurden beobachtet; in einem Fall trat eine Schwellung der Gelenke ein, die aber sehr schnell, ohne therapeutische Mittel, verschwand.

Was die Scharlachkomplikationen, wie Nephritis, Otitis, Lymphadenitis u. a. anbetrifft, so wirkt auf sie das Serum gar nicht; die Zahl dieser Komplikationen ist jedenfalls nicht größer als in den Fällen, die kein Serum erhielten. Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Effekt der Wirkung und der Serumquantität beobachten; im Gegenteil, in den toxischen Formen, bei denen wir das beste Resultat erzielten, verwendeten wir kleinere Serumquantitäten, als in den Fällen lokaler und Mischformen.

Die Zeit der Einspritzung spielt eine wesentliche Rolle: je frühzeitiger wir das Serum einspritzten, desto bessere Resultate bekamen wir.

8 Fälle, die mit Pneumonie kompliziert waren, erwiesen kein Heilresultat.

In 5 Fällen wurde wegen gleichzeitiger Rachendiphtherie auch Diphtherieserum angewendet, weshalb wir diese Fälle bei unseren Schlußfolgerungen nicht berücksichtigt haben.

Die Bewertung der Resultate der Serumtherapie erfolgte nach gründlicher klinischer Beobachtung und Vergleich mit solchen Fällen, die kein Serum erhalten hatten.

Schwere toxische Scharlachformen mit hoher Temperatur, scharf ausgeprägtem Ausschlag, Bewußtlosigkeit, Delirium und schlechtem Puls besserten sich schon nach einmaliger Einführung von 30—40 ccm Serum im Verlauf von 24 Std., nur einzelne Fälle erforderten wiederholte Injektion, die in denselben Mengen am nächsten Tag erfolgte.

Was die Todesfälle anbetrifft, so starben von 120 Fällen, die mit Serum behandelt waren, 31 = 25 Proz.; die Hälfte fällt auf die septisch-toxische Form der Erkrankung, 5 auf die Mischform und kein einziger Todesfall in Fällen rein toxischer Formen.

Auf Grund unserer Beobachtungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Das auf dem Wege der Pferdeimmunisierung mit Streptokokkenkulturen, die auf Zuckerbouillon während 4—5 Tage im Thermostat bei 37° gezüchtet waren, gewonnene Scharlachheilserum zeigte eine gute Wirkung bei toxischen Scharlachformen. — 2) Bei Lokal- und Mischformen war die Wirkung des Serums wesentlich geringer, in septisch-toxischen Fällen versagte das Serum völlig. — 3) Das einverleibte Serum ruft keine Komplikationen hervor, ist aber andererseits nicht imstande, etwaige Komplikationen während des Krankheitsverlaufes zu beseitigen. — 4) Größere Serumdosen zeigen bessere Wirkung in Fällen toxischer und Mischformen des Scharlachs. Die ungünstigen Resultate der Anwendung des Serums bei lokalen und septischen Formen steht in keinem Zusammenhang mit der angewendeten Dosis. — 6) Die frühzeitige Anwendung des Serums — möglichst am 3.—4. Tage der Erkrankung — gibt den besten Heileffekt; bei Spätanwendung ist entweder kein oder nur ein Partialeffekt zu erwarten.

Nachdruck verboten.

Was ist es mit der Einheit der Streptokokken?

Eine zeitgemäße Frage, behandelt von

Prof. Dr. **Ludwig Heim**

auf Grund früherer Untersuchungen und nach neueren Versuchen, gemeinsam angestellt mit

Dr. **Karl Schlirf.**

[Aus dem Hygienisch-bakteriolog. Institut der Universität Erlangen. (Vorstand: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Heim).]

Mit 2 Tafeln.

In dem Bestreben, immer mehr Beispiele für die Variation und den Uebergang einer Bakterienart in eine andere zu bekommen, meinte man, die Streptokokken als besonders geeignet wählen zu können.

Lange Jahre hindurch kannte man bloß den Streptococcus erysipelatos Fehleisen und den Str. pyogenes Rosenbach als menschenpathogene Kettenkokken, suchte sie erst auseinander zu halten, kam aber dann zu der Ansicht, daß beide gleich seien. Ando und Ito glauben, einen gewissen Unterschied darin gefunden zu haben, daß wenige Stämme des Str. pyogenes, viele des Str. erysipelatos Mannit zerlegen. Auch die bei Scharlach zuerst von Loeffler, dann in 92 Fällen von Raskin gefundenen Streptokokken wurden als gleich mit dem Str. erysipelatos angesehen, nur sollen sie sich nach Raskin durch rascheres Absterben in Nährbrühe von diesen unterscheiden, während Kurth den Scharlachstreptokokkus in Anbetracht seiner „Haut-, bzw. Schuppen- oder Bröckel" bildenden Fähigkeit, seiner Beanspruchung höherer Wärme bei Beginn des Wachstums und seiner Giftigkeit für den menschlichen und tierischen Körper als eine besondere Art ansah, die er Str. conglomeratus nannte. In neuester Zeit wurde von den amerikanischen Forschern F. und G. H. Dick und Dochez gerade die Giftigkeit wieder hervorgehoben und sowohl für die Anstellung des Dicktestes wir für die Gewinnung eines antitoxischen Serums verwertet. Demnach wäre der Str. conglomeratus Kurth als eine Ektotoxin bildende Abart des Str. pyogenes anzusehen.

Schottmüller, der zuerst im Jahre 1895 die hämolytische Eigenschaft des Str. pyogenes auf Blutagar feststellte, wollte ihn Str. haemolyticus nennen im Gegensatz zu den nicht hämolysierenden Str., darunter in erster Linie dem Str. viridans und dem von ihm im Jahre 1903 beschriebenen Str. mucosus. (Verwiesen sei auf die Uebersicht von Pieper).

Die Berechtigung zur strengen Auseinanderhaltung dieser Str. unter sich und zu ihrer Trennung vom Pneumokokkus wurde lebhaft bestritten, nachdem zuerst Kuczynski und Wolff, dann Morgenroth und seine Mitarbeiter beobachtet hatten, daß hämolytische Str. in vergrünende vom Viridanscharakter übergehen können, ihr Hämolysierungsvermögen vorübergehend oder dauernd verlieren und zugleich an Virulenz einbüßen, insbesondere aber, daß die Str. unter oft tiefgreifender Veränderung ihrer Merkmale ineinander übergehen, so daß,

wie Hubert meint, die vermutete Einheit der Str. und Pneumokokken auch experimentell gesichert sei.

Nach Neufeld kann beim Durchtritt durch die Haut oder die Schleimhäute und die nächsten daran anschließenden Lymphbahnen wie bei anderen Krankheitserregern so auch bei den Str. eine Abschwächung der Virulenz eintreten; es handle sich dabei nur um eine Zustandsänderung, nicht um die Entstehung neuer Arten. Anderseits sahen Schnitzer und Pulvermacher Str. vom sogenannten grünen Zustand in den hämolytischen übergehen sowohl bei Fortzüchtung auf Nährböden als auch nach ip. oder sk. Infektion von Mäusen und zwar unter gleichzeitiger Gewinnung einer höheren Virulenz. Freund sah einen solchen Uebergang bei zwei Viridansstämmen aus Endocarditis lenta unter Einwirkung von Rivanol. Much nahm ihn bei einem Kranken an, aus dessen Blut Str. mitis lange Zeit bis kurz vor dem Tode gezüchtet worden war, wo dann Erysipelstr. erschienen.

Gleichzeitiges Vorhandensein von grünen und hämolytischen Str. im menschlichen Körper, worüber Howell berichtete, kann auch als Mischinfektion gedeutet und deshalb nicht als zwingender Beweis für den Uebergang verwertet werden. Howell, die einen grünen und einen hämolytischen Str. aus einer chronischen Endokarditis gezüchtet hatte, sah in 2 Jahren langen Fortzuchten keine Veränderung des Viridans; sie findet in ihren Befunden keine Stütze für die Ansicht von Kuczynski und Wolff, daß dieser Str. hämolytische Abkömmlinge entstehen lasse, auch nicht für die Ansicht von Schnitzer und Munter, daß Viridanskolonien sich aus der hämolytischen Varietät entwickeln können, sowie daß die Virulenz der letzteren abnehme.

Schottmüller verteidigte in seinem „Leitfaden" seine Ansicht von der Artverschiedenheit des Str. viridans und haemolyticus. Den feststehenden Namen Str. pyogenes seu erysipelatos zu ändern ist unzulässig, übrigens kommen hämolytische Str. auch unter den nicht pathogenen vor. Mit Recht aber wies Sch. auf die Unklarheit hin, die mit den Worten „grün" und „vergrünend" geschaffen wurde. Der Str. viridans bildet Ansiedlungen, die nach einigen Tagen als feine grüne Punkte erscheinen, die Größe eines Stecknadelkopfes kaum erreichen und in der Blutagarmischung 2:5 eine mit bloßem Auge sichtbare Resorption des Blutfarbstoffes nicht, in Agar mit weniger Blut einen schmalen hellen Saum bei der Mehrzahl der Stämme erkennen lassen. Die Bezeichnung „grün" hat sich demnach auf die Ansiedlung selbst zu beziehen, daher hat der Str. viridans seinen Namen. Schnitzer und Munter dagegen beziehen sie auf die Umgebung der Ansiedlung und sagen: „An Stelle dieser (der hämolytischen) Höfe tritt fast regelmäßig die bekannte grüne Verfärbung des Nährbodens in Erscheinung, weshalb wir von „grünwachsenden" Streptokokken und von „Vergrünung" eines Streptokokkenstammes sprechen". Morgenroth und seine Mitarbeiter nahmen es mit der Beurteilung der Farben nicht sehr genau, schon in ihrer 1. Mitteilung über „Depressionsimmunität" sprachen sie im Gegensatz zu den „grünen" von „weißen" Modifikationen, meinten aber damit nicht etwa milchweiße Ansiedlungen, sondern die farblosen glasklaren Höfe der hämolytischen Str. auf Blutagarplatten. Auch Kuczynski und Wolff wollen unter den Kolonien, die sie als solche von Str. viridans bezeichnen, diejenigen verstehen, die den hämopeptischen Abbau des Blutagars nicht zu Ende bringen, „vielmehr den Nährboden nur im Sinne einer Grün-

färbung im durchfallenden Licht, einer Graugrünfärbung im auffallenden Licht, einer typisch erscheinenden Häufung bräunlicher Fällungen bei Lupenbetrachtung im Koloniebereich und in seiner nächsten Umgebung verändern". Wir nennen diese Erscheinung, die wir in Fig. 9 dargestellt haben, unvollkommene Hämolyse im Gegensatz zu der vollkommenen Hämolyse mit glasklarem Hof (Fig. 7), wie sie der Str. pyogenes macht, dessen Ansiedlungen auf der Blutagarplatte unter keinen Umständen einen Farbstoff bilden, worauf Schottmüller ausdrücklich hingewiesen hat. Er schreibt deshalb, es wäre vielleicht richtiger, von einem Hämolyseverlust gewisser, meist nicht sehr virulenter Stämme zu sprechen, was die von Morgenroth gefundenen Tatsachen besser als der Name „Vergrünung" wiedergeben würde.

Wir haben einen solchen Hämolyseverlust, zunächst nur vorübergehend, bei einem Scharlachstreptokokkus beobachtet. Zur Infektion hatte ein Stückchen Milz der Scharlachleiche gedient, aus der auf der Blutagarplatte ausschließlich glasklar hämolysierende Str. aufgegangen waren. Die Maus erschien anfänglich krank, in der Folge bildete sich über der Impfstelle ein etwa 1 cm hoher, $^1/_2$ cm breiter Schorf, der, während sich das Tier erholte, bestehen blieb, bis es nach 4 Wochen starb. Aus dem Schorf, dem Blut und den inneren Organen wuchsen auf der Blutagarplatte Str.-Ansiedlungen, die hellgrün aussahen und keine glasklare Hämolyse zeigten. Mit der Brühekultur aus einer solchen unvollkommen hämolysierenden, grünen Ansiedelung wurden 2 Mäuse ip. gespritzt mit der Verdünnung 10^{-1}, die andere mit 10^{-3}, jede mit 0,3 ccm; zum Vergleich 2 Mäuse mit dem früher aus der Milz gezüchteten hämolysierenden Stamm. Ergebnis:

Mäuse mit dem unvollkommen hämolysierenden Stamm aus der Maus:

10^{-1}: tot in 9—17 Std. daraus unvollk. häm. Str. mit grünlicher Farbe

10^{-3}: tot in 32 Std. daraus klar hämol. Str.

Mäuse mit dem klar hämolysierenden Stamm aus der Scharlachmilz:

10^{-1}: tot nach 5 Tagen mit fibrinöser Peritonitis und Hautphlegmone an der Impfstelle. Aus ihr klar häm. Str.

10^{-3}: bleibt am Leben.

Die grünen, unvollkommen häm. Str. waren hier virulenter als die anderen und gewannen ihr Häm.-Vermögen schon in der mit der höheren Verdünnung geimpften Maus wieder. Aber als das Herzblut dieser Maus $2^1/_2$ Monate an Seidenfäden im Exsikkator getrocknet und dann wieder ausgesät worden war, entwickelten sich hellgrüne Ansiedlungen mit unvollkommener Hämolyse; von der daraus angelegten Kultur in Serumbrühe tötete 0,1 ccm der Verdünnung 1:10 sk. verimpft die Maus nicht mehr. Von den an Seidenfäden weitergeführten klar hämolysierenden Scharlachstr. tötete die gleiche Gabe wiederum in 5 Tagen.

Salus sah bei der Fortzüchtung mancher seiner aus Endocarditis lenta (benigna) gezüchteten unvollkommen hämolysierenden Viridans-Stämme eine Zunahme des Hämolysierungsvermögens; er teilt die Ansicht Schottmüllers nicht, der zufolge der Str. viridans eine eigene scharf umschriebene Art darstelle.

Auch wir sind dieser Meinung. Man geht wohl mangels anderer tiefer greifender Merkmale nicht fehl, wenn man die aus Entzündungsherden gezüchteten grünen Str. mit unvollkommener Hämolyse als Abarten bezeichnet, die nach dem Gebrauch der botanischen Namengebung zu benennen wären als Str. pyogenes var. viridans.

Nun wollen mehrere Forscher nicht einmal erheblichere Unterschiede gelten lassen und alle Str. nur als Zustandsänderungen einer einzigen Art ansehen. Diese Meinung geht zeitlich weit zurück.

In Deutschland waren es Kruse und seine Schüler, die die bei Zahnkaries gefundenen Str. als übereinstimmend mit dem Str. lacticus Kruse ansahen. Kruse, der den Str. lacticus für den nächsten Verwandten des Pneumokokkus erklärte, schreibt in seiner Allg. Mikro-

biologie S. 286: „Eine scharfe Trennung der 3 Hauptarten von Streptokokken, des Str. pyogenes, lanceolatus und lacticus ist nicht möglich, da alle Uebergänge zwischen ihnen unter natürlichen Bedingungen vorkommen und auch ihre Variabilität unter künstlichen Bedingungen sehr erheblich ist. Das hindert nicht, daß ihre typischen Vertreter sich gut unterscheiden lassen." Und Hilgers geht soweit, daß er die Streptokokken und die nicht sporenbildenden, grampositiven Stäbchen, die im kranken Zahnbein gefunden werden, als Varietäten von 2 verwandten Arten, nämlich des Str. lacticus und des Bac. lacticus bezeichnet, wobei ihm das Versehen unterläuft, daß Kruse seinerzeit mit dem Namen Bac. lacticus die später von ihm als Str. lacticus erkannten, von Günther und Thierfelder beschriebenen Bakterien der Milchsäuregärung belegt hatte. Er faßt alle in kariösen Zähnen gefundenen Str. als 1 Art, als Str. lacticus auf. Nach unseren Befunden lassen sich aber bei genauerer Beobachtung des züchterischen Verhaltens mit Sicherheit mehrere gute Arten unterscheiden, insbesondere ist der Str. lactis Heim (= Str. lacticus Kruse) durch sein Verhalten in Lackmusmilch von den andern Str. gut abgrenzbar. Wir konnten ihn in der Mundhöhle nur selten, in kariösen Zähnen überhaupt nicht finden (Schlirf 2). Noch dazu nehmen außer Hilgers auch Sperling sowie Seitz an, daß dieser Str. in die Stäbchenform übergehe. Davon haben wir niemals etwas wahrnehmen können. Eine etwas längliche, zugespitzte Form kommt beim Str. lactis in ähnlicher Weise vor wie beim Pneumokokkus, aber noch niemand hat deswegen von einer stäbchenartigen Variation des Diplococcus lanceolatus gesprochen. Ausführlich hat Heim (4) die Ansicht von Hilgers abgelehnt. Man sieht, auf welch irrigen Wegen sich manche Schriftsteller befinden, die die Variabilität der Bakterien überhaupt soweit sich ausdehnen lassen, daß schließlich nur noch wenige Arten übrig bleiben würden. Ein starkes Beispiel dafür ist folgender von Hadley in seiner zusammenfassenden Uebersicht über Bakterien und Zahnkaries mitgeteilte Satz: „Noguchi (1910) weist in einer Arbeit über den Bac. bifidus auf die Ausdehnung der Variation hin, die man bei dieser Form durch Abänderung der Züchtungsverfahren erzielen kann. Er glaubt, daß Bac. bifidus bloß die halb anaërobe Stufe von einem sporenbildenden Aërobier ist, der zur heubazillenähnlichen Gruppe (subtiloid group) gehört und vielleicht in Verbindung mit Bac. mesentericus (fuscus) zu bringen ist".

So kann es nicht wunder nehmen, wenn auch in der Lehre von den Streptokokken die Ansicht vom Uebergang der einen in die andere Art und schließlich von der Gleichheit aller ihre Anhänger gefunden hat, zumal da innerhalb der Gattung Streptococcus die Unterscheidung der einzelnen Arten schwieriger als bei anderen Gattungen ist und außer bei den pyogenen Streptokokken noch zu wenig geübt und verfolgt wurde.

Eine besondere praktische Bedeutung gewann jene Ansicht für die von dem Londoner Kliniker Hunter aufgestellte und von verschiedenen amerikanischen Forschern weiter behandelte Lehre von den im Munde sitzenden Herden namentlich von Streptokokken als Ursache der verschiedensten Erkrankungen örtlicher und allgemeiner Art, also für die Lehre von der oralen Sepsis und der fokalen (herdförmigen) Infektion. In jahrelangen, durch große Reihen von Tierversuchen belegten Unter-

suchungen glaubte E. C. Rosenow den Beweis dafür erbracht zu haben, daß einerseits Streptokokkenherde in den verschiedensten Organen vielfach auf erkrankte Mandeln oder Zähne zurückzuführen seien, und anderseits, daß Str., die aus Mandeln oder Wurzelgranulomen von Kranken mit Appendizitis, Gallenblasenentzündung und andern örtlichen Infektionen gezüchtet waren, im Tierversuch wieder eine Vorliebe für die Ansiedlung im Appendix oder in der Gallenblase usw. erkennen lassen. Rosenow glaubte ferner, den Uebergang von Pneumokokken in Str. bestätigt und eine Spaltung hämolytischer Str. in hämolytische, grünwachsende und anhämolytische Str. herbeigeführt zu haben durch Aenderung der Nährmedien, Belassen auf austrocknendem Blutagar bei 37°, durch Züchtung in salzarmer oder hypertonischer Nährbrühe bei wechselnder Sauerstoffspannung oder durch Verunreinigung mit Bac. subtilis. Er stellte daraufhin folgende Reihenfolge auf: Str. haemolyticus, rheumaticus, viridans, Pneumococcus, Str. mucosus, wobei die Erscheinung auch rückgängig (reversibel) sei. (Angeführt nach der Uebersicht von Allerhand.)

Evans (3) ging sogar so weit, einen Zusammenhang zwischen Str. lacticus und Str. pyogenes anzunehmen und zu erklären, die Zeit des Monomorphismus (Pasteur, Robert Koch) sei überwunden. Sie sieht die Schnelligkeit des Fortschrittes in der Bakteriologie in Zukunft darin, wie schnell die einzelnen Forscher die Theorie des Polymorphismus und der Polybiose anerkennen werden!

Um nun selbst einen Einblick in die Möglichkeit und die Verfahren der Ueberimpfung einer Streptokokkenart in die andere zu bekommen, prüften wir einige der Untersuchungen von Morgenroth und seinen Mitarbeitern über die Einheit der Streptokokken nach und wandten uns an Herrn Dr. Schnitzer, der uns in entgegenkommender und dankenswerter Weise die Aussaaten eines Pneumokokkenstammes nebst den Modifikationen B und C auf Pferdeblutagarplatten überließ.

Die Verfahren zur Gewinnung der Modifikationen sind an verschiedenen Stellen veröffentlicht. Aus den Mitteilungen von Morgenroth, Schnitzer und Berger (= M. Sch. B.) sowie Berger und Engelmann sei folgendes angeführt:

Durch gleichzeitige oder nachträgliche Einwirkung von Optochin auf Pneumokokken, die in einer mit Hefe oder Tierkohle versetzten Nährflüssigkeit gezüchtet worden waren, ließen sich Pneumokokken in galleunlösliche, für die Maus nicht mehr pathogene Str. überführen. Die Uebergangsstufe soll die Modifikation A sein, in die der Pneumokokkus durch Hefe oder Tierkohle oder durch andere Bedingungen, unter Umständen bereits im befallenen Körper übergeht. Sie wird, da sie sich sonst vom Pneumokokkus nicht unterscheidet, lediglich dadurch als vorhanden angenommen, daß sie durch Optochineinwirkung oder im Verlaufe der Fortzüchtung oder im kranken Körper in die Modifikation B übergeht.

Diese Modifikation B erhielten M. Sch. B. in 29 Versuchen mit 15 verschiedenen Pneumokokkenstämmen 22mal, also in 75 Proz. Sie ist ein für die Maus nicht pathogener, in Galle unlöslicher, gegen Optochin unempfindlicher grüner Str., der die Brühe klar läßt und starken flockigen Bodensatz bildet.

Die Modifikation C wurde in 7 von jenen 22 „modifizierten" Stämmen erhalten. Sie soll in jeder Beziehung dem hämolytischen Str. entsprechen, „wächst auf Blutagar mit mehr oder minder starker Hämolyse, ist galleunlöslich und optochinunempfindlich. Sie besitzt das Vermögen, im Subkutangewebe am Bauche der Maus — meist noch in starken Kulturverdünnungen von 1:10000 bis 1:1000000 — eine Phlegmone zu bilden und weist vor allem die für hämolytische Str. charakteristische, oft recht hohe Rivanolempfindlichkeit (1:640000) auf".

Die geschilderten Umwandlungen sollen auch in umgekehrter Richtung ver-

laufen (Rückschläge). Im Tierexperiment soll die Entstehung von allen 3 Pneumokokkenmodifikationen durch das Verfahren der kurzdauernden Tierpassage herbeizuführen sein.

Von den uns gesandten Kulturen auf Blutagar erwies sich, wie zu erwarten, die Stammform als ein regelrechter Pneumokokkus; die schon mehrere Tage alten Ansiedelungen waren grün und hatten teilweise wenigstens in ihrer Umgebung den Pferdeblutagar etwas aufgehellt. Auf Zuckeragar wuchsen sie ungemein zart, auf Serumagar waren die Ansiedlungen größer und deutlicher (Fig. 4). Durch Galle wurden sie aufgelöst. Sie trübten die Brühe und starben in ihr in wenigen Tagen ab. 0,1 ccm einer 19stünd. Brühekultur sk. gegeben tötete die Maus in weniger als 24 Std. Lackmusmilch wurde schwach rosa ohne Entfärbung und ohne Gerinnungserscheinung.

Die Modifikation B unterschied sich von den Pneumokokken schon dadurch, daß ihre die kurzen Ketten zusammensetzenden Diplokokken deutlich kleiner waren (Fig. 2). Auf Agar mit oder ohne Serum bildeten sie kleine, rundliche, undurchsichtige (Fig. 5), auf Hammelblutagar kleine, runde, leicht erhabene Ansiedlungen, die im auffallenden Licht grau, im durchfallenden grün aussahen, einzelstehende erreichten einen Durchmesser bis 0,7 mm. In Gelatine wuchsen sie nicht, Brühe ließen sie klar und setzten am Boden zahlreiche kleine Bröckchen ab, die beim Schütteln aufwirbelten, ohne die Brühe zu trüben. Sie waren noch nach 11 Tagen mit Erfolg überimpfbar. Lackmusmilch machten sie erst nach 2 Tagen blaßbläulichrosa, in der Kuppe des Reagenzglases entstand vorübergehend weiße Färbung mit Gerinnung, die allmählich nach oben weiter schritt, wobei aber die Milch nur kleistrig wurde.

Es handelt sich hier um irgendeine andere nicht pathogene Str.-Art, die grundsätzlich verschieden von den Pneumokokken ist. Ob die in den Versuchen von M. Sch. B. aufgeführte Modifikation B immer die gleiche Str.-Art gewesen ist, erscheint uns bei dem geringen Wert, den die Autoren auf die gestaltlichen und züchterischen Merkmale zur Unterscheidung der Str. legen, fraglich.

Die Modifikation C zeigte auf Pferdeblutagar breite, glasklare Hämolyse, aber bei der Uebertragung auf Hammelblutagar blieb die Hämolyse vollkommen aus. Dabei wuchs dieser Stamm auch auf Agar ohne Blut so kräftig (Fig. 6), wie es weder die pathogenen Str. im allgemeinen, noch vollends die Pneumokokken tun. Das Wachstum auf Serumagar zeigt Fig. 8 in natürlicher Größe; demgegenüber waren die Ansiedlungen der Pneumokokken und der Modifikation B auf der gleichen Platte nur ganz zart und klein und hoben sich so wenig vom Nährboden ab, daß sie zur Wiedergabe im Lichtbild nicht geeignet waren. Auf Gelatine wächst die Modifikation C gut wie ein Milchsäurestreptokokkus. Brühe trübt sie. Lackmusmilch macht sie schon nach 9 Std. kleistrig und elfenbeinweiß mit einem schmalen blauen, ins Rötliche spielenden oberen Saum, der unter allmählicher völliger Gerinnung der Milch in der Folge deutlicher rot wird und nach unten fortschreitet. Für die Maus fanden wir den Stamm nicht pathogen. Die mit 0,3 ccm Brühekultur ip. gespritzte Maus blieb am Leben, und nach Einspritzung der gleichen Menge unter die Bauchhaut einer andern Maus traten keine Entzündungserscheinungen auf. Auch hinsichtlich des Verhaltens gegen Optochin konnten wir keine nennenswerten Unterschiede gegenüber dem Str. lactis feststellen. Dieser wuchs in Serumbrühe von der Verdünnung 1:1024000 bis hinauf zu 1:8000

und zwar mit wenig Trübung, die Modifikation C wuchs bis 1:4000 und trübte die Serumbrühe stärker.

Es handelt sich demnach um einen völlig andern Str. als bei den beiden vorigen, nämlich um einen Milchsäurestr., der sich von den regelrechten Str. lactis nur durch sein etwas geringeres Säuerungsvermögen und durch die Eigenschaft, auf Pferdeblutagar hämolytische Höfe zu bilden, unterscheidet. Einen ähnlichen Milchsäurestr., der aus Harn gezüchtet war, hat Heim (2) bereits beschrieben; auch dieser Stamm besaß ein etwas geringeres Säuerungsvermögen, er zeigte aber auf Hammelblutagar Hämolyse, übrigens, wie wir jetzt ergänzend hinzufügen können, auch auf Pferdeblutagar. Im amerikanischen Schrifttum sind mehrfach Stämme von Str. lactis mit hämolysierender Eigenschaft aufgeführt. Diese ist also durchaus nicht auf die pathogenen Str. beschränkt und es ist deshalb, wie bereits gesagt, nicht angängig, den Str. pyogenes mit dem Namen Str. haemolyticus zu belegen. Unser Stamm ist nur „ein" Str. haemolyticus oder besser gesagt ein hämolysierender Str.

Zur Nachprüfung der Ergebnisse von M. Sch. B. wählten wir die Verfahren, wie sie sie bei ihren Versuchen I, II und V beschrieben haben.

Als Hefe benutzten wir teils untergärige Bierhefe, teils Brennereihefe, beide vom Institut für Gärungsgewerbe in Berlin in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt mit dem Vermerk, daß in ihnen das Vorhandensein fremder Keime nicht auszuschließen sei; ferner eine „Beha" Nährhefe, hergestellt aus reiner Bierhefe der Nährextrakt-Gesellschaft Friedrichshain G. m. b. H. in Berlin. Von der Levurinose „Blaes" der chemischen Fabrik J. Blaes & Co. in Lindau i. B., die außer einer Trockenhefe von M. Sch. B. verwendet wurde, sahen wir ab, weil die mit ihr hergestellte Aufschwemmung infolge ihres beträchtlichen Gehalts an Stärke nach dem Sterilisieren einen Kleister gab.

Während M. Sch. B. ihre Hefeausschwemmungen durch $^1/_2$stünd. Aufenthalt im Dampf sterilisierten, erhitzten wir sie in den ersten 7 Versuchen 2mal im Kochschen Dampftopf je $^1/_2$ bis $^3/_4$ Std., in Versuch 6 sogar im Autoklaven, wobei aber die Aufschwemmung an dem eigenartigen Hefegeruch einbüßte. Diese Abweichungen schienen uns für die Beseitigung fremder Keime von vornherein geraten, zumal da in der Hefe auch Sporenbildner vorhanden sind, die zwar wegen ihrer langsameren Entwicklung nicht besonders stören, aber doch nach einiger Zeit, z. B. im Versuch 9 zutage traten. In den Versuchen 8—10 folgten wir der Vorschrift und sterilisierten nur einmal $^1/_2$ Std. im Dampf, darunter war dann der einzige, mit dem wir ein ähnliches Ergebnis wie M. Sch. B. erhielten.

Als Zusatz zur Nährbrühe stand uns Pferdeserum anfänglich nicht gleich zur Verfügung. Wir ersetzten es dann durch 2 Tropfen defibriniertes frisches Hammelblut oder durch einige frische Kartoffelstückchen, die, wie Morgan und Avery in Versuchen mit Zusatz von nicht erhitztem Pflanzengewebe nachwiesen, bewirken, daß das Wachstum der Pneumo- und Streptokokken rascher beginnt, die stationäre Phase des Wachstums verlängert wird, daß die Keime länger am Leben bleiben und in ihrer Entwicklung von der P_H-Reaktion der Nährflüssigkeit weniger abhängig sind. Näheres über den Vitaminbedarf der Str. siehe bei Knorr und über das Verfahren bei der Verwendung von Kartoffeln bei Knorr und Gehlen. Bewahrt man beim Zerschneiden der Kartoffeln mit sterilen Messern Vorsicht vor Luftverunreinigungen, dann bekommt man viele Röhrchen keimfrei, was selbstverständlich durch längeres Einstellen in den Brutschrank geprüft werden muß. In einigen Proben wuchsen danach Sarzinen, in 4 anderen zu unserer Ueberraschung Streptokokken. Ihre Herkunft erklären wir uns dadurch, daß einmal während der Herrichtung etwas gesprochen wurde; die Str. stammten jedenfalls aus Mundtröpfchen.

Das Pferdeserum setzten wir anfänglich ebenfalls nicht erhitzt zur Brühe, da es nach Jodierung der geschorenen Haut mittels Trokar und Gummischlauch unmittelbar aus der Halsvene in die sterilisierte, keimsicher verschlossene Flasche geleitet worden war. Nach Abfüllung in sterilisierte Röhrchen blieb es klar, aber nach

längerer Zeit trat ein geringer Bodensatz auf, gebildet von kleinen Korynebakterien. Sie ließen sich durch fraktionierte Sterilisation bei 58° beseitigen. Das später verwendete Serum machten wir gleich nach der Entnahme auf diese Weise keimfrei.

Von Pneumokokkenstämmen verwendeten wir den von Herrn Dr. Schnitzer gesandten Stamm (hier bezeichnet als S), ferner 1 aus Eiter (E) und 2 aus pneumonischen Lungen hier gewonnene Stämme (L und M). Der Stamm M war kein typischer Pneumokokkus, sondern ein Pneumococcus mucosus Typ III der Amerikaner. Während alle anderen Stämme die Mäuse im Auswertungsversuch in der Gabe von 0,3 ccm ip. einer Verdünnung 10^{-6} binnen 48 Std. töteten, war für den Stamm M die mindest tödliche Gabe schon bei 10^{-1} erreicht. Aber nachdem dieser Stamm in Hefeaufschwemmung gewachsen und daraus wieder gezüchtet war, tötete er die Mäuse in der gleichen Dosis wie die anderen, ja sogar noch in der Verdünnung 10^{-7}, aber hier erst binnen 56 und 68 Std.

Unsere 10 Versuche zerfielen in 3 Reihen. Die 1. Reihe wurde entsprechend dem Versuch II von M.Sch.B. angelegt.

Die Pneumokokken waren in Versuch 1 und 3 Stamm M, in Versuch 6 Stamm E.

Als Nährflüssigkeit diente in Versuch 1 Brühe mit Kartoffeln, in Versuch 3 Brühe mit Hammelblut, in Versuch 6 Brühe mit Pferdeserum.

Die Nährflüssigkeit wurde zu gleichen Teilen (2 ccm) mit einer 10proz. wässrigen Hefeaufschwemmung vermischt.

In Versuch 1 nahmen wir Beha-Hefe, in 3 untergärige Bierhefe, beide 2mal gedämpft, in 6 diese Bierhefe im Autoklaven sterilisiert.

Nach Einsaat und 18stünd. Bebrütung wurde auf Blutagarplatten ausgestrichen, am folgenden Tage eine einzelne Ansiedlung in hefefreie Nährflüssigkeit übertragen und bis zum nächsten Tage bebrütet (Hefestamm). Gleichzeitig wurde der entsprechende nicht mit Hefe vorbehandelte Stamm in Nährflüssigkeit gezüchtet (Normalstamm).

Hierauf Anlegung von 2 Reihen Optochinverdünnungen, jede in der Verdünnung 1:2000 bis hinab zu 1:1024000. Die schließliche Menge war in jedem Röhrchen 4 ccm.

Impfung der einen Reihe mit 1 Tropfen Kultur des Normalstamms, der anderen mit je 1 Tropfen der Kultur des Hefestamms. In Versuch 1 und 3 wurde die unverdünnte Kultur genommen, in Versuch 6 je 1 Tropfen der auf 1/10 verdünnten Kultur.

Nach 24stünd. Bebrütung Aussaaten von 1 Oese aus jedem Röhrchen auf Blutagarplatten. Die Menge der darauf angegangenen Ansiedlungen wurde bezeichnet mit:

p, wenn nur 1 oder wenige Ansiedlungen, mit
P, wenn zahlreichere, mit
PP, wenn sehr viele Ansiedlungen von Pneumokokken gewachsen waren.

In jeder der 3 Versuchsreihen wurde zum Vergleich der Ausfall der Versuche von M.Sch.B. mit aufgenommen. Die von ihnen erhaltenen Modifikationen wurden entsprechend der obigen Abstufung bezeichnet mit b, B und BB (BB entsprach also der Bezeichnung +++ Modifikation B von M. Sch. B.).

Die in jedem Versuch angelegten Kontrollen ergaben sehr reichliche Entwicklung der Pneumokokken (= PP). In den 3 Tabellen sind die stets angestellten Kontrollen (= PP) nicht eigens aufgeführt.

Tabelle der 1. Versuchsreihe

über das Verhalten von Pneumokokken, die 18 Std. in Nährbrühe mit Hefe bei 37° gezüchtet waren (Hefestamm), gegenüber den gleichen ohne Hefe gezüchteten Pneumokokken (Normalstamm) in Optochinverdünnungen, verglichen mit dem entsprechenden Versuch II von M.Sch.B. (Tabelle siehe S. 32.)

Die 2. Reihe entsprach dem Versuch V von M.Sch.B.

Die Pneumokokken waren in Versuch 2, 4 und 5 Stamm S, in Versuch 7 Stamm E.

Als Nährflüssigkeit diente bei Versuch 5 und 7 Brühe mit Pferdeserum, bei Versuch 2 Brühe mit frischen Kartoffelstückchen, bei 4 Brühe mit je 2 Tropfen defibriniertem Hammelblut.

Optochin-verdünnungen	M. Sch. B. II		Versuch 1		Versuch 3		Versuch 6	
	Normal	Hefe	Normal	Hefe	Normal	Hefe	Normal	Hefe
1:1000	0	0	—	—	—	—	—	—
1:2000	0	0	0	0	0	0	0	0
1:4000	0	0	0	0	0	0	0	0
1:8000	0	0	0	0	0	0	0	0
1:16 000	0	0	0	0	0	0	0	0
1:32 000	0	BB	0	0	0	0[2])	0	0
1:64 000	0	BB	p[1])	p	0	0[2])	0	0
1:128 000	0	BB	p[1])	P	p	P[2])	0	0
1:256 000	0	BB	PP	PP	p	P[2])	0	0
1:512 000	0	BB	PP	PP	PP	PP	P	0
1:1 024 000	P	BB	PP	PP	PP	PP	PP[3])	PP[3])

1) Verunreinigung mit weißen Sarzinen, jedenfalls aus der Brühe mit Kartoffeln.
2) Verunreinigung mit sehr kleinen Stäbchen, wahrscheinlich aus dem Hammelblut stammend. Sie hatten sich zur Zeit der Prüfung auf Sterilität noch nicht hinreichend entwickelt gehabt.
3) Dieser Stamm wurde in seiner Virulenz gegenüber der Maus geprüft. Tödliche Dosis noch bei 10^{-6} ip. 0,3 ccm.

Zu 2 ccm einer 20stünd. Serumbrühekultur der Pneumokokken werden 2 ccm Serumbrühe zugefügt, die zu $^1/_3$ mit einer 20proz. Hefeaufschwemmung versetzt ist.
Die Hefen waren in Versuch 2, 5 und 7 untergärige Bierhefe, in 4 Hefe Beha, jede Aufschwemmung war 2mal gedämpft.
Das Gemisch wird $2^1/_2$ Std. bebrütet, danach 1 Tropfen davon in 2 ccm Serumbrühe ohne Hefezusatz verimpft und nun diese $2^1/_2$ Std. bebrütet.
Von dieser so gewonnenen Pneumokokkenkultur (Hefestamm) wird ohne weitere Verdünnung 1 Tropfen in die eine vorbereitete Reihe der Optochinverdünnungen eingesät (diese waren in Versuch 2, 4 und 7 etwas anders angelegt als von M. Sch. B.).
In die andere Reihe der gleichen Optochinverdünnungen wird 1 Tropfen unverdünnter, $2^1/_2$ Std. in Serumbrühe bei 37° gezüchteter Pneumokokkenkultur gegeben (Normalstamm). Schließliche Menge in jedem Röhrchen 4 ccm. Am folgenden Tag wird aus jedem Röhrchen 1 Oese auf Blutagarplatten ausgestrichen.

Tabelle der 2. Versuchsreihe.

über das Verhalten von Pneumokokken, die nur $2^1/_2$ Std. in Nährbrühe mit Hefeaufschwemmung bei 37° gehalten und dann in Nährbrühe ohne Hefezusatz wieder $2^1/_2$ Std. bebrütet waren (Hefestamm) gegenüber den ebenso, aber ohne Hefe behandelten Pneumokokken (Normalstamm) in Optochinverdünnungen, verglichen mit dem entsprechenden Versuch V von M. Sch. B.

Optochin-verdünnung	M. Sch. B. V Stamm		Versuch 5 Stamm		Optochin-verdünnung	Versuch 2 Stamm		Versuch 4 Stamm		Versuch 7 Stamm	
	Norm.	Hefe	Norm.	Hefe		Norm.	Hefe	Norm.	Hefe	Norm.	Hefe
1:5000	—	0	—	0	1:2000	0	0	0	0	0	0
1:10 000	—	0	0	0	1:4000	0	0	0	0	0	0
1:20 000	—	0	0	0	1:8000	0	0	0	0	0	0
1:40 000	—	BB	0	0	1·16 000	0	0[1])	0	0	0	0
1:80 000	—	BB	0	0	1:32 000	0	0[1])	0	p	0	0
1:160 000	0	BB	0	0	1:64 000	P	0[1])	PP	PP	0	0
1:320 000	0	BB	P	0	1:128 000	PP	p	PP	PP	0	0
1:640 000	0	BB	PP	PP	1:256 000	PP	PP	PP	PP	0	0
1:1 280 000	0	BB	PP	PP	1:512 000	PP	PP	PP	PP	0	0
1:2 560 000	p	BB	PP	PP	1:1 024 000	PP	PP	PP	PP	p	0

1) Verunreinigung mit kleinen Korynebakterien.

In Versuch 7 dieser und in Versuch 6 der 1. Versuchsreihe hatte das Optochin stärker hemmend gewirkt, weil das Optochinum hydrochloricum durch Alkaleszenz des Glases hydrolysiert worden war, was sich durch Trübung der Lösung zu erkennen gegeben hatte.

Die 3. Reihe wurde entsprechend dem Versuch von M. Sch. B. Nr. I angelegt.

Die Pneumokokken waren in Versuch 8 Pneumokokkus E, in Versuch 9 Pneumokokkus S und in 10 Pneumokokkus L.

Als Nährflüssigkeit diente Brühe mit 10 % Pferdeserum.

Bei Versuch 8 und 10 nahmen wir Brennereihefe, bei Versuch 9 untergärige Bierhefe, diesmal beide nur $^1/_2$ Std. im Dampf sterilisiert. In Versuch 8 hatte das Röhrchen mit der 20proz. Hefeaufschwemmung im Kochschen Dampftopf gestanden. in Versuch 10 in einem Kartoffeldämpfer, es war darin durch Umlegung eines Tuches stehend erhalten. Diese Probe erwies sich nach 4tägigem Stehen als bakterienhaltig, mikroskopisch fanden sich in ihr außer Hefezellen Streptokokken, Staphylokokken und Korynebakterien, bei der späteren Aussaat gingen aber nur die beiden letzteren an. Für Versuch 9 wurde die Hefeaufschwemmung, weil sie besondere Neigung zum Hochsteigen im Glase hatte, in einem Becherglase im Kartoffelkocher $^1/_2$ Std. gedämpft und dann in sterilisierte Reagenzgläser abgefüllt. Diese Probe zeigte nach 4tägigem Stehen sporenbildende Stäbchen.

Die 20proz. Hefeaufschwemmung wird mit gleichen Teilen einer Lösung von Optochinum hydrochloricum 1:5000 versetzt, so daß sich eine 10proz. Hefeaufschwemmung mit einem Optochingehalt von 1:10000 ergibt. Die Mischung wird $^1/_2$ Std. bebrütet und gut geschüttelt, dann die Flüssigkeit durch Zentrifugieren vom Bodensatz getrennt, von diesem abgegossen und mit sterilem dest. Wasser auf das Ausgangsvolum ergänzt.

Durch Schütteln in dem mit sterilisiertem Kork verschlossenen Zentrifugenglas wird der Satz im Wasser möglichst gleichmäßig verteilt und von der Aufschwemmung 4 ccm in ein Röhrchen, in dem sich 4 ccm Serumbrühe befinden, pipettiert. Nach Durchmischung werden von hier aus die weiteren Verdünnungen mit je

Tabelle über die 3. Versuchsreihe.

	Aus den Verdünnungen	Nach 24 Stunden auf Blutagar gewachsen in Versuch Nr.			
		M. Sch. B.	8	9	10
18stündige Behandlung der Pneumokokken bei 37° mit an Hefe gebundenem Optochin in verschiedenen Verdünnungen in Serumbrühe	1:2	b (B)	—	0	Str.
	1:4	BB	0	0	Str.
	1:8	0	0	p[4])	0
	1:16	0	0	P	Str.
	1:32	0	0	PP	PP[4])[2])
	1:64	0	0[1])	PP	PP[2])
	1:128	0	p[4])	PP	PP[2])
	1:256	PP	PP	PP	PP[2])
	1:512	PP	PP	PP	PP[3])
Zum Vergleich 18stündige Behandlung der Pneumokokken bei 37° mit Optochin (ohne Hefe) in verschiedenen Verdünnungen in Serumbrühe	1:100000	—	0	0	0
	1:200000	—	0	0	0
	1:400000	0	0	0	0
	1:800000	0	p[4])	P	PP
	1:1600000	PP	P	PP	PP[4])
	1:3200000	PP	PP	PP	PP

Str. = Streptokokken.

1) Kleine gramnegative Stäbchen.

2) Nach einigen Tagen, als die Pneumokokken abgestorben waren, wurden aus der Brühe Streptokokken gezüchtet.

3) Nach dem Absterben der Pneumokokken wuchsen in der Aussaat weder Streptokokken noch andere Bakterien.

4) Der Stamm tötete die Maus mit 0,3 ccm ip. noch in der Verdünnung 10−6.

4 ccm Serumbrühe hergestellt. Zum Vergleich wird eine Reihe von Optochinverdünnungen mit Serumbrühe angelegt, bei der das Optochin vorher nicht an Hefe gebunden war.

Menge in jedem Röhrchen 4 ccm. Einsaat von je 1 Tropfen 1/10 Kultur. Nach 18 stünd. Bebrütung wird aus jedem Röhrchen 1 Oese auf Blutagar ausgestrichen. (Siehe Tabelle S. 33.)

Die in Versuch 10 gefundenen Streptokokken bringen zwar Lackmusmilch nicht zur Gerinnung, reduzieren aber im Anfang den Farbstoff, trüben die Brühe, wachsen auf Gelatine und sind für die Maus nicht pathogen. Auf Blutagar (Hammelblut) entsteht in der Umgebung der Ansiedlungen Vergrünung und später unvollkommene Hämolyse. Sie sind verschieden von der uns gesandten Modifikation B, stehen aber der Modifikation C nahe. Milchsäuernde Str. wie diese sind sie nicht.

Wir hätten demnach anscheinend einen der von M. Sch, B. a. a. O. S. 191 als selten aufgeführten Fälle vor uns, wo im Reagenzglas mit Optochin der Uebergang wenigstens in eine ähnliche wie die Modifikation C unmittelbar eintrat.

Ueberrascht waren wir, nach 9 ergebnislosen Versuchen endlich einen mit M. Sch. B. nahezu übereinstimmenden erhalten zu haben. Allein wir können die hier erhaltenen Str. bei den großen Unterschieden gegenüber den Pneumokokken unmöglich als Abkömmlinge von ihnen ansehen. In den Versuchen der 1. und 2. Reihe waren wir von dem Muster darin abgewichen, daß wir die Hefen entweder zweimal im Kochschen Dampftopf oder einmal im Autoklaven sterilisierten, in Versuch 10 dagegen hatten wir genau nach M. Sch. B. die Hefe nur $^1/_2$ Std. im Dampf behandelt. Als wir 4 Tage später nach dem Ausfall des Versuchs den im Zentrifugenröhrchen stehen gelassenen Hefeoptochinsatz untersuchten, fanden sich Korynebakterien, Mikrokokken und ein Kettchen von Streptokokken. In der Aussaat gingen nur die beiden ersten auf, die Str. nicht. Nun bestand der Verdacht, daß die im Versuch 10 erhaltenen Str. aus der Hefe stammten, und wir wiederholten daher den Versuch wenigstens teilweise ohne Zusatz von Pneumokokken.

Eine 20 proz. Aufschwemmung von Brennereihefe wurde in einem Reagenzröhrchen zusammen mit anderen Röhrchen in den Kochschen Dampftopf eingestellt, als die Siedehitze beinahe erreicht war, und von dieser Zeit ab $^1/_2$ Std. im strömenden Dampf belassen. Die Hefen waren danach, wie die Aussaat in Leber-Leberbrühe ergab, abgetötet, dagegen waren noch lebende Streptokokken und dicke grampositive Stäbchen vorhanden.

Nach der Herausnahme aus dem Dampf wurde die Hefeaufschwemmung mit gleichen Teilen einer Optochinlösung 1:5000 versetzt, wie bei der 3. Versuchsreihe beschrieben weiter behandelt und dann Verdünnungen von 1:2 bis 1:32 in Serumbrühe angelegt, aber keine Pneumokokken zugesetzt. Diese 5 Röhrchen wurden zusammen mit der Ausgangsmischung bebrütet. Am nächsten Tag waren in der Ausgangsmischung mikroskopisch vorwiegend Streptokokken, daneben vereinzelt grampositive Stäbchen vorhanden (Fig. 10); in den Verdünnungen zeigten sich nur Streptokokken, die die abgetöteten Hefezellen umwachsen hatten. Ein Ausstrich aus der Verdünnung 1:32 ist in Fig. 11 wiedergegeben. Die Plattenaussaaten aus den Verdünnungen ergaben nur Streptokokken, die schon mikroskopisch, aber auch züchterisch denen der Modifikation C (Fig. 3 u. 6) ähnlich waren und mit unseren in Versuch 10 erhaltenen Str. übereinstimmten.

Damit ist erwiesen, daß die im Versuch 10 mit Pneumokokken gefundenen Str. keine Zustandsänderungen der Pneumokokken waren, sondern Streptokokken, die aus der Hefe stammten.

Bei einer einmaligen $^1/_2$stünd. Behandlung im Dampf, wie sie bei den Versuchen von M. Sch. B. angewendet wurde, hat man keine Gewähr, daß die Hefeaufschwemmung keimfrei wird, und daß etwa in ihr enthaltene Str. abgetötet werden. Wie man z. B. aus Versuchen mit Sterilisierung der Milch weiß, schützen zellige Bestandteile, Eiweiße und Fette die Bakterien bis zu einem gewissen Grade vor der Einwirkung der Hitze. Auch äußere Umstände kommen in Betracht, so ein geringerer Gasdruck oder ein minderer Heizwert des Gases; ferner kommt es darauf an, wie groß die zu sterilisierende Flüssigkeitsmenge ist, an welcher Stelle im Dampftopf die Proben stehen und ob die Hitze rasch genug zu ihnen vordringen kann. Um einzelne Röhrchen mit ihrem Inhalt sicher und ohne Umstände keimfrei zu bekommen, stellen wir sie lieber in den kleinen Wasserraum eines konischen Wasserbades und decken zwei auf den Einsatzringen stehende, übereinander passende Bechergläser darüber (Sterilisierung im „bedeckten Wasserbad"). Man hat dabei Gelegenheit, das Verhalten des Inhalts, etwaiges Ueberschäumen usw. zu beobachten.

Ferner haben wir unsterilisierte Hefen in Leber-Leberbrühe eingesät und die gärende Flüssigkeit von Zeit zu Zeit untersucht. Es fanden sich bei Brennereihefe im gefärbten Ausstrich nach 8 Std. hauptsächlich Hefen, nach 12 Std. erschienen daneben schon ziemlich reichlich Streptokokken und einige dicke Stäbchen, nach 15 Std. waren fast nur noch Streptokokken zu sehen. Bei Levurinose „Blaes" erschienen die Streptokokken erst in der 15. Std. neben vielen kurzen Stäbchen und dicken Stäbchen. Aus untergäriger Bierhefe wuchsen keine Str. (daher auch nicht in Versuch 9), sondern vorwiegend Hefen und daneben noch Mikrokokken und sporenbildende Stäbchen. Auch die „Beha"-Nährhefe enthielt keine Str.; Aussaaten mehrerer Proben ergaben entweder keine Entwicklung oder es wuchsen nur Stäbchen, meist dicke grampositive, einmal welche, die lange Scheinfäden bildeten und deren Ansiedlungen durch ihre lockige milzbrandähnliche Zeichnung auf Gelatine- und Agarplatten auffielen.

Da sich nun in der Brennereihefe und in der Levurinose „Blaes" Str. aus der Gruppe der Lackmusmilch reduzierenden Str. haben nachweisen lassen, liegt es nahe anzunehmen, daß wenigstens die zur gleichen Gruppe gehörige Modifikation C aus einer nicht hinreichend sterilisierten Hefe stammte. Str., die der Modifikation B entsprochen hätten, fanden wir in keiner unserer Hefen. Sie können aber noch von anderswoher gekommen sein, etwa aus dem verwendeten Blutserum, das zur Nährbrühe gesetzt wurde, oder aus sonst einer Quelle. Das gilt auch für die Versuche von M. Sch. B. mit Tierkohle. Uebrigens haben wir zu unserer Ueberraschung auch in einer frisch von Merck bezogenen „Knochenkohle U. S. P. VIII" Str. der genannten Gruppe gefunden.

Nach Einsaat dieser Tierkohle in Leber-Leberbrühe entwickelten sich unter Bildung von Gasblasen zuerst reichlich grampositive und gramnegative Stäbchen. In Abimpfungen auf Agarplatten gingen unter den jetzt rein aëroben Bedingungen entweder keine Ansiedelungen oder nur welche von Diplokokken auf, die im Abstrich noch mit einigen Stäbchen der Aussaat vermischt waren (Fig. 13). Reinzucht dieser Diplokokken erwiesen sich bei weiteren Uebertragungen in Brühe als kurze Str.; sie zeigten in Lackmusmilch Reduktase mit Säuerung wie Str. lactis, ein Teil brachte die Milch zur Gerinnung, ein anderer nicht. Sie hämolysierten auf Agar mit Pferde- oder Hammelblut nicht und wuchsen auf Gelatine.

M. Sch. B. haben über 5 Reihen mit im ganzen 29 Versuchen berichtet, aber in jeder Reihe nur einen Versuch aufgeführt. Es wäre wünschenswert gewesen zu erfahren, welche und wie viel Versuche auf jede Reihe trafen, wie sie ausfielen und ob nicht gelegentlich Verun-

reinigungen oder sonstige Störungen unterliefen. Bei ihrem Versuch II und bei dem Versuch III mit Kohle gaben sie an, daß sie den mit Hefe oder Kohle vorbehandelten Pneumokokkenstamm vor der Anlegung der Optochinreihe geprüft und als echt erwiesen haben. Durch die Optochinwirkung erhielten sie dann die Modifikation B. Wir bekamen bei dem gleichen Verfahren mit Hefe keine Modifikationen, sondern nur immer wieder die eingebrachten unveränderten Pneumokokken. Wir können diese Unstimmigkeit nach den vorliegenden Aufzeichnungen von M. Sch. B. nicht erklären.

In Versuch V schrieben sie nichts über die Prüfung des der Hefeaufschwemmung ausgesetzt gewesenen Pneumokokkenstamms. Die Möglichkeit ist nicht auszuschließen, daß hier schon in der Ausgangsaufschwemmung andere Str. aus der Hefe oder aus dem Blutserum hineingekommen waren. Wir haben aus der gut sterilisierten Hefeaufschwemmung nur wieder die zugesetzten echten Pneumokokken erhalten, abgesehen von einigen Verunreinigungen mit kleinen Korynebakterien, die jedenfalls aus den dabei verwendeten frischen Kartoffelstückchen stammten.

In ihrem Versuch I erhielten M. Sch. B. die Modifikation B schon in den ersten Verdünnungen, wie auch wir unsere Streptokokken. Zum Unterschied von den Versuchen II und V wurden hier zugleich mit der Hefe und dem Optochin auch die in der Ausgangsmischung vorhandenen Hefestreptokokken verdünnt und darauf ist es zurückzuführen, daß in den zunehmenden Verdünnungen die Zahl der Str. abnahm, und daß dadurch das Wachstum entweder ausblieb oder vermindert und verlangsamt wurde. In unserem Versuch 10 war in der Verdünnung 1:16 gerade noch ein kleines Flöckchen in der Brühe zu fassen gewesen; in Verdünnung 1:8 wurde es wahrscheinlich übersehen und bei der Aussaat nicht erfaßt. Wir konnten aber, wie erwähnt, die Str. auch noch bis zur Verdünnung 1:256 gewinnen, nachdem die Pneumokokken abgestorben waren, in der Verdünnung 1:32 und 1:64 gelang es erst nach 6, in den beiden folgenden Verdünnungen erst nach 8 Tagen.

In Versuch 9 der gleichen Reihe verwandten wir untergärige Bierhefe, in der Str. vermißt wurden. In Versuch 8 hatte die Behandlung im Koch schen Dampftopf hingereicht, um die Str. der Brennereihefe abzutöten. Die $^1/_2$stünd. Dämpfung ist eben gerade die Grenze, wo unter günstigen Umständen die Str. in der Hefe getötet werden, unter weniger günstigen nicht mehr, wie das in Versuch 10 der Fall war.

Solange bei Versuchen über die Verwandlung von Pneumokokken in andere Str. nicht sicher festgestellt ist, daß in der Aussaat keine andern Str. vorhanden waren, wenn ferner Angaben über das gestaltliche und das züchterische Verhalten der als abweichend gefundenen Str. auf anderen als Blutnährböden fehlen, sind Mitteilungen wie die vorgenannten nicht einwandfrei. Das bezieht sich auch auf die Modifikationen B und C, die Berger und Jakub aus ihren mit Pneumokokken infizierten Mäusen im abgekürzten Tierversuch teils unmittelbar teils auch auf dem Umweg über die Kultur erhielten. Ferner auf die Versuche von Berger und Engelmann, bei denen gewaschener Lungenauswurf von Pneumonikern verwendet wurde. Denn selbst mit mehrmaligem Waschen gelingt es nicht sicher, die an Str. reiche Mundflora auszuschalten. Auch ihre Mitteilungen von der Ueberführung von Pneumokokken in hämolytische Str. in der Maus sowie die gleiche

Umwandlung auf der Blutagarplatte und bei der Weiterzüchtung auf ihr über avirulente „grüne" Str. wieder zurück zum Pneumokokkus müssen Zweifeln begegnen; es können sich selbst nach wiederholter Ueberzüchtung namentlich auf der Blutagarplatte sowohl Pneumokokken wie grüne Str. hinter den hämolytischen und umgekehrt verbergen. Wir verweisen auf ein Lichtbild von Schlirf (2) Taf. I, Fig. 9, das zeigt, wie erst nach wiederholter Umzüchtung sogar auf blutfreiem Agar aus den Mundstreptokokken andere Mundkeime (dort Azidobakterien) herausgewachsen sind[1]).

Das Gleiche gilt für die Mitteilung von Engelmann, der zufolge sich von einem hämolytischen Str. aus Kieferhöhleneiter bei der Verimpfung der scheinbar reinen Serumbrühekultur auf Mäuse ein Pneumokokkus abspaltete, und zwar nicht der typische Diplococcus lanceolatus, sondern der Typ III, der Pneumococcus mucosus, also einer der bekannten Bewohner des Nasenrachenraums. Als der Versuch 3 Tage später mit dem Ausgangsstamm wiederholt wurde, war der Pneumococcus mucosus verschwunden, ähnlich wie die Pneumokokken in unserem Versuch 10. Es ist das mit ihrer Kurzlebigkeit zu erklären. Aus dem Unterhautgewebe und dem Herzblut dieser Mäuse wuchsen bloß hämolytische Str. und bei ganz schwacher Infektion nur aus dem Herzblut hämolytische Str., aus dem Unterhautgewebe grüne. Daß aus einer mit klar hämolysierenden Str. geimpften Maus grüne Str. mit unvollkommener Hämolyse erhalten werden können, haben auch wir beobachtet (S. 26).

Weniger erklärlich sind andere Mitteilungen über die Gewinnung und Rückverwandlung von Pneumokokken aus Str. Wie hat sich E. K. Wolff darum bemüht, ohne zu einem einwandfreien Ergebnis zu gelangen, selbst M. Sch. B. sowie Berger und Engelmann äußerten Bedenken wenigstens über die Deutung der Ergebnisse. Wenn M. Sch. B. berichten, daß ihre Modifikationen auch in umgekehrter Richtung verlaufen können, daß also Pneumokokken aus den avirulenten, in ihren züchterischen Eigenschaften von den Pneumokokken abweichenden, sogar aus der nach unseren Darlegungen zu den Milchsäurestr. gehörigen Modifikation C gewonnen werden können, was wir für nicht möglich halten, so läßt sich darüber kein Urteil gewinnen, weil die Behauptungen nicht durch Versuche belegt sind. Nach Rosenow, der solche Umwandlungen von nicht krankheitserregenden in krankheitserregende Str. bei seinen eingangs erwähnten Versuchen sah, ist man dabei vom

1) Unsere Aussaaten auf dem blutfreien Agar waren stets gut verstrichen. Am wenigsten von allen derartigen Verfahren ist das kreuzweise Ausstreichen nach De Kruif, das M. Sch. B. anwendeten, geeignet, weil die ausstreichende Platinschlinge immer wieder auf frühere dichter besäte Stellen zurückkehrt und die bereits vorhandenen überquert. Das von De Kruif gegebene Lichtbild kann auch wirklich nicht zur Empfehlung seines Verfahrens dienen. Die Verdünnungen und Gußplatten, wie sie Robert Koch mit Nährgelatine machte, und ohne die ehedem keine Trennung als einwandfrei angesehen wurde, sind leider für die Agarplatten nicht so bequem anzuwenden. Ein völlig gleichwertiger Ersatz ist das Bestreichen nicht. Mit Vorteil nimmt man dazu die abgeflammte und wieder abgekühlte Kuppe eines mit etwas Wasser gefüllten Reagenzglases nach Jacobsthal. Die gewachsenen Ansiedelungen müssen unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung (Leitz 2 oder Zeiß aa6) durchgemustert werden. Dabei ergeben sich gerade bei den Str. Anhaltspunkte für die Unterscheidung. Die undurchsichtige Blutagarplatte ist dazu ganz ungeeignet, man muß in jedem Falle das Bild der Ansiedelungen auf der durchsichtigen Agarplatte kennen lernen. Das Arbeiten mit festen durchsichtigen Nährböden ist ja die Grundlage, auf der Robert Koch die neuzeitige bakteriologische Forschung aufgebaut hat.

Zufall abhängig, denn man müsse unter Umständen auf plötzlich auftretende Mutationen warten!

Wenn ganz allgemein gesagt wird, es wäre die Umwandlung von Pneumokokken in Str. gelungen, so können wir uns damit nicht zufrieden geben, denn wir vermissen die Angabe, in welche Str. sich die Pneumokokken verwandelt haben sollen. M. Sch. B. konnten sie nicht machen, weil sie von vornherein von der Annahme ausgingen, daß alle Str. eins seien. Aber tatsächlich gibt es recht verschiedenartige. Ueber ihre Erkennung und Unterscheidungsmerkmale sei einiges mitgeteilt.

1. Die Länge der Ketten kann trotz den Uebergängen, die zwischen kurzen, mittellangen, langen und längsten Str. vorhanden sind, recht wohl zur Unterscheidung dienen, wenn man nur Zuchten in flüssigen Nährmitteln nimmt. Wer sich mit den im Munde vorkommenden Str. näher beschäftigt hat, wird zugeben müssen, daß hier mustergültige Vertreter für die kurzen Str. einerseits und die längsten anderseits zu finden sind.

Kurz bis mittellang sind in ihrer regelrechten Wuchsform die Pneumokokken, mittellang bis lang die pyogenen Str. (Fig. 14); die kürzeren Formen kommen mehr in den ersten Zuchten vom Körper weg vor, die längeren in Fortzuchten. Ganz eigenartig ist in seinem Aussehen der Str. longissimus Spengler. Seine vorwiegend geraden Ketten bestehen aus etwas kleinen, meistens länglichen, mit den Enden aneinanderstoßenden Diplokokken und durchziehen telegraphendrahtartig ganze Gesichtsfelder bei mittelstarken (Fig. 16), ja selbst bei schwachen Vergrößerungen. Zerstückelte Ketten kommen selbstverständlich auch hier vor. Zwar zweifelt auch der Kenner manchmal, ob er einen richtigen Str. longissimus oder einen andern längste Ketten bildenden Str. vor sich hat, aber die genauere Beobachtung der Form der Diplokokken und der Ketten, die Kurzlebigkeit der Kulturen, die auf Agar und in der Brühe schon nach einigen Tagen und an Seidenfäden im Exsikkator nach wenigen Wochen eingehen, der Mangel an Pathogenität für die Maus wird schließlich zum sicheren Entscheid führen. Daß ein Str. longissimus aus einem Str. pyogenes oder aus einem Pneumokokkus entstehen könnte oder umgekehrt, halten wir für völlig ausgeschlossen.

Längste Ketten bilden auch andere im Munde vorkommende Str., aber im Gegensatz zum Str. longissimus sind die Einzelpaare größer, oft, ja regelmäßig finden sich unter ihnen platte, mit den Breitseiten aneinanderliegende Diplokokken und die Ketten sind mehr oder weniger geschlängelt und gewunden. In dem Lehrbuch von Heim sind auf der Tafel III Nr. 14 der 6./7. Aufl. derartige Ketten eines Str. aus Zungenbelag unter dem mit Vorbehalt gegebenen Namen Str. conglomeratus abgebildet, die sich in der genannten Hinsicht vom Str. longissimus unterscheiden. Der Name muß aber jetzt für diesen Str. wieder zurückgenommen werden, nachdem man geneigt ist, den bei Scharlach vorkommenden hämolysierenden und in allen seinen sonstigen Merkmal dem Str. pyogenes gleichenden Str. als Giftbildner für sich zu behandeln, und weil von Kurth der Name Str. conglomeratus gerade für die bei Scharlach vorkommenden Str. festgelegt ist.

2. Ansiedlungen auf Gelatineplatten, die bei vielen anderen

Bakterien recht bezeichnend sein können, kommen hier weniger in Betracht, denn entweder wachsen die betreffenden Str. bei Zimmerwärme überhaupt nicht oder nur ganz langsam, oder sie lassen, selbst wenn sie größer werden, keine bezeichnenden Merkmale erkennen. Verflüssigende sind selten; wir sind noch keinen begegnet. Aber v. Lingelsheim führte unter den von ihm 1891 beschriebenen kurzen Str. 4 solche auf, die aus Mundspeichel, altem Rinderblutserum und 2 alten Kulturen als Verunreinigungen stammten, und neuerdings fanden Kurt Meyer und Löwenstein unter 125 Stämmen von Enterokokken 4 Gelatine verflüssigende, 2 bei Pyelitis, 1 in Duodenalsaft bei Leberzirrhose und 1 in Douglasabszeß, ferner Kurt Meyer und Schönfeld unter nun 152 Stämmen 4 weitere.

3. Das Aussehen der Ansiedlungen auf Agarplatten bei schwacher, 30—50facher Vergrößerung ist ein bis zu einem gewissen Grade gut brauchbares Unterscheidungsmittel. Die Ansiedlungen sind entweder zart und farblos oder im Innern etwas dichter oder auch mit Ausnahme eines helleren Randes ganz undurchsichtig und sehen dann unter dem Mikroskop gelblich oder bräunlich oder braun oder grau bis schwarz aus. Im Lichtbild werden schon dünnere Ansiedlungen oder Teile von ihnen dunkler als sie in Wirklichkeit sind.

Sehr dünne, fast durchscheinende, mehr oder weniger rundliche Ansiedlungen bilden die Pneumokokken (Fig. 4), sie sind wesentlich zarter als die des Str. pyogenes (Fig. 17).

Viel größer, aber noch zarter, kaum sichtbar, hauchartig sind die des 1mal aus Zungenbelag gezüchteten Str. halitus Heim (Fig. 19).

Geschlossen mit leicht gezähneltem Rand oder mit maschenförmigen Ausläufern sind die rundlichen Ansiedlungen des Str. pyogenes seu erysipelatos (Fig. 17 und 18). Anscheinend hängt es von der Feuchtigkeit des Agars ab, ob die eine oder die andere Form auftritt. Geschlossene Ansiedlungen können im Innern granuliert sein, was beim Str. pyogenes sowie beim Str. viridans (Fig. 20) vorkommt. Fein, aber dichter granuliert sind die des Str. lactis und der Modifikation C (Fig. 6), soweit sie nicht ganz dicht und daher undurchsichtig sind; sie sind schon nach 24 Std. wesentlich größer als die der pathogenen Str.

Sehr lockermaschige Ansiedlungen anderer Str. kann man im Ausstrich von Zungenbelag gesunder Menschen und im Bohrstaub von Zahnkariês finden (Fig. 15). Der Str. longissimus bildet auf Agar ohne Blut ebenfalls sehr zarte, aber mehr geschlossene Ansiedlungen mit kurzen Ausläufern.

Undurchsichtig sind die kleinen, rundlichen Ansiedlungen des Str. lapillus Heim, der seinen Namen daher bekommen hat, daß sie wie Steinchen verstreut unter anderen liegen (Fig. 22); ob ähnliche, etwas größere und solche, die von einem Kranze hellerer Körnchen umgeben sind, besonderer Art sind, ist noch nicht untersucht. Die Ansiedlungen des Str. lapillus sind auf Hammelblutagar sehr klein, farblos und verändern die Farbe des Nährbodens nicht.

Die Ansiedlungen der Modifikation B sind auf Agar mit und ohne Serum denen des Str. lapillus etwas ähnlich, auf Blutagar aber etwas größer und im durchfallenden Lichte grün. Die Modifikation B stimmt mit dem Str. lapillus in der Kleinheit der Kokken überein, die kurze bis mittellange Ketten bilden (Fig. 5); sie unterscheidet sich von ihm ferner dadurch, daß sie die Brühe vollkommen klar läßt, die Lackmusmilch weniger stark rötet und langsamer zur Gerinnung bringt.

Größere undurchsichtige Ansiedlungen macht der Str. pleomorphus, den Kraskowska und Nitsch aus dem Nasenrachenraum mehrerer Personen, zuerst bei Angina auf Loefflerserum oder auf Aszitesagar züchteten. Wir erhielten ihn aus Zungenbelag auf Lackmuszuckeragar bisher nur einmal; hier zeichneten sich die Ansiedlungen durch eine tiefe Lackmusröte aus, die an die Farbe des Prodigiosus erinnerte. Seinen Namen hat er von dem wenigstens in den ersten Zuchten vorhandenen stäbchen-, ja hefeartigen Aussehen der Kokken; die Ketten werden erst in der Fortzüchtung in Brühe deutlich, die klar bleibt. Er wächst auf Gelatine zart und scheint sich erst mit der Zeit an das Wachstum in der Kultur zu gewöhnen.

Kleinere und größere, völlig undurchsichtige Ansiedlungen von etwa 0,1 bis 0,6 mm im Durchm. kommen öfter im Ausstrich aus der Mundhöhle vor. Eine solche Art ist der Str. opacus Heim (Fig. 21). Er macht kurze bis mittellange Ketten.

4. Das Hämolysierungsvermögen auf der Blutagarplatte ist eine Eigenschaft, die bei Verwendung einer Blutsorte vorhanden sein, einer andern fehlen, und die vorübergehend oder dauernd verloren gehen kann. Doch hat sie diagnostischen Wert, namentlich wenn es sich um vollkommen glasklare Hämolyse (Fig. 7) handelt. Ihr gegenüber unterscheiden wir die unvollkommene Hämolyse (Fig. 9), bei der in dem mehr oder weniger aufgehellten Bezirk bei schwacher Vergrößerung noch Blutkörperchen zu sehen sind. Man findet sie beim Str. viridans, Str. longissimus u. a., namentlich wenn man die bebrütete Platte einige Tage außerhalb des Brutschranks stehen läßt, ferner bei früher klar hämolysierenden Stämmen, die etwa im Tierkörper oder sonstwie abgeschwächt sind.

Ueber das Verhalten der verschiedenen Mundstr. auf Blutagar stehen eingehendere Beobachtungen noch aus. Ito fand hämolytische Str. normalerweise in etwa 40 Proz. der gesunden Rachenhöhlen und rechnete etwa die eine Hälfte von ihnen zum Beta-Typ, die andere zu einem von ihm abgegrenzten weniger pathogenen atypischen Beta-Typ.

J. H. Brown hat unter Leitung von Theob. Smith in einer etwas breit angelegten Monographie seine Beobachtungen dargelegt. Sie enthält 8 umfangreiche Tabellen mit einer Zusammenstellung des großen Schrifttums über Str. und Str.-Infektionen, Untersuchungen über das Wachstum auf Agar mit und ohne Blut, in Blutbrühe und anderen flüssigen Nährmitteln, über Fermentationsreaktionen, Pathogenität und Virulenz, Verhalten unter Anaërobiose, Mutation und Variabilität und die Einteilung der Str. nebst 33 Tafeln mit Lichtbildern. Seine Beschreibungen der Ansiedelungen auf Blutagarplatten beziehen sich auf solche, die nach Anlegung der Verdünnungen in Reagenzgläsern gegossen wurden. B. unterscheidet 3 Typen.

Der Alpha-Typ verwandelt das Hämoglobin bei Brutwärme in Methämoglobin, so daß die Blutkörperchen grün erscheinen; setzt man die Kultur dann weiter 1 oder 2 Tage in den Eisschrank, dann kommt eine fast klare hämolytische Zone. Durch den Wechsel der Temperatur können so abwechselnd grüne und helle Zonen erzielt werden. Dazu gehören u. a. der Str. viridans und der Str. mucosus.

Ein Alpha-Strich-Typ (Type α′) wird als Zwischenglied zwischen Alpha- und Beta-Typ aufgestellt, der Raffinose zerlegt, nicht pathogen für Kaninchen ist und dessen Ansiedelungen im klaren Hof noch grün gefärbte Blutkörperchen erkennen lassen. Fisk und Burry konnten bei ihren Untersuchungen keinen dieser Beschreibung entsprechenden Stamm finden.

Der Beta-Typ macht vollkommen glasklare Hämolyse.

Der Gamma-Typ zeigt in oder auf Blutagarplatten keine irgend wahrnehmbare Hämolyse und Verfärbung des Nährbodens weder nach der Bebrütung, noch nach Kaltstellung. Brown nennt unter solchen Str. den von Mandelbaum als Str. saprophyticus, den von Zangemeister als Str. anhaemolyticus

vulgaris beschriebenen Str. und gewisse von Rosenow aus Gelenkflüssigkeit von Rheumatismusfällen gezüchtete Str.

Diesem Typ entspricht auch die Modifikation B und der Str. lapillus, doch zeigen sie Unterschiede in der Farbe; die Ansiedelungen der Modifikation B sind im durchfallenden Licht dunkelgrün, die des Str. lapillus wenigstens in dickerer Schicht des Blutagars (2:5) nicht.

5. Das Wachstum in Nährbrühe kann nur mit Einschränkung als bezeichnend gelten. Die meisten und jedenfalls alle kurzen Str. trüben sie, längste und lange lassen sie zumeist klar und setzen am Boden einen zusammenhängenden oder aus weichen Klümpchen bestehenden Belag, an der Wand feine oder dickere Stippchen ab, so der Str. longissimus, Str. pyogenes u. a. Sicher ist das Zeichen nicht, denn unter Umständen trübt auch der Str. pyogenes eine serumfreie Brühe etwas, z. B. wenn er wiederholt durch den Tierkörper (Maus) gegangen ist.

Ein besonders geeignetes Nährmittel für die Auffindung von Str. in Bakteriengemischen ist die Leber-Leberbrühe.

6. Das Verhalten in Lackmusmilch ist ein wichtiges Unterscheidungsmittel für den Str. lactis und ihm nahestehende Str. gegenüber den Pneumokokken und allen übrigen Streptokokken. Der Str. lactis macht die Lackmusmilch durch die von ihm gebildete Reduktase binnen 7 bis 17 Std. vollkommen elfenbeinweiß bis auf eine obere, einige Millimeter breite rote Zone unter der weiß bleibenden Rahmschicht. Im Laufe der folgenden Tage schreitet die Rötung nach unten fort, bis schließlich die ganze Probe rosa oder rot geworden ist. Mit dem Erscheinen der obersten Rotfärbung setzt gewöhnlich die Gerinnung ein.

In der Stärke der Säurebildung und in dem Vermögen, die Milch zur Gerinnung zu bringen, gibt es Verschiedenheiten. Wie bei einer ansauren Milch des Handels kann man bei Reinzuchten gewisser Stämme, die in der reduzierten Milch weiterhin zwar Rotfärbung, aber keine Gerinnung erzeugt haben, die Gerinnung eintreten sehen, wenn man die Proben dämpft. Auch unter den unmittelbar aus Marktmilch gewonnenen Stämmen gibt es welche, die mehr oder weniger Säure bilden. Ferner sind Unterschiede in der Hitzebeständigkeit (Patzschke) oder im Hämolysierungsvermögen vorhanden. Inwieweit es sich dabei um verschiedene Arten oder Varietäten handelt, harrt noch der Entscheidung. Umfassender wäre es, die Gruppe, deren vorbildlicher Vertreter der Str. lactis ist, lackmusreduzierende Str. anstatt milchsäuernde Str. zu nennen.

Gerade durch die rasche und bis auf eine obere schmale Zone vollkommene Reduktion des Lackmusfarbstoffs in der Milch trennt sich diese Gruppe von allen andern Str., auch solchen ab, die, wie z. B. manche Stämme von Str. pyogenes u. a. Str., die Lackmusmilch nicht sofort, sondern erst nachdem sie rosa oder rot geworden ist, nur vorübergehend oder teilweise weiß machen.

Auf die Wichtigkeit der Reduktasebildung hat bereits Salter 1921 in seinen vergleichenden Untersuchungen der hämolytischen Str. aus Milch und aus menschlichen Erkrankungen aufmerksam gemacht und zugleich berichtet, daß schon Esten 1909, Evans 1914 und Sherman 1918 das charakteristische Verhalten der Str. vom Lacticustyp in Lackmusmilch beobachtet haben, insbesondere hat Evans (1) die Veränderung der Lackmusmilch durch Milchsäurestr. ebenso, jedoch mit Außerachtlassung der Zeit des Eintritts der Reduktionsreaktion, beschrieben wie 1923 Heim (2). Als weiteres Unterscheidungsmerkmal gegenüber den pathogenen hämolytischen Str. führt Salter auf, daß die Milchstämme Saccharose nicht zerlegen.

Nach Bitter und Buchholz sollen sich die Milchsäurestr. von Pneumokokken und Diplokokken besonders durch ihr Verhalten in Brühe mit 1 Proz. Milchzucker abtrennen lassen, in der jene eine außerordentlich starke Trübung, einen auffällig voluminösen Bodensatz und eine deutliche weißliche Verfärbung der Brühe zeigen sollen. Wir erhielten aber mit der Milchzuckerbrühe lange nicht so eindeutige und sinnfällige Ergebnisse. Uebrigens wird jeder, der einen Str. auf Milchsäuerung prüfen will, selbstverständlich Milch nehmen müssen; da aber die Gerinnung allein noch nicht ausschlaggebend ist, setzt man ihr etwa 7 Proz. Lackmuslösung zu. (Wir nehmen die Lackmuslösung von F. C. W. Kahlbaum in Adlershof bei Berlin „nach Kubel-Tiemann hergestellt und mit Chloroform konserviert").

Auch von anderen Untersuchern wurde die Verwendung bestimmter Zuckerarten, Glykoside oder höherer Alkohole zur Unterscheidung von Str. herangezogen, so für Enterokokken von Kurt Meyer und Schönfeld Aeskulin und Mannit.

Alle die genannten Merkmale reichen nun freilich oft nicht hin, um eine sichere Entscheidung über die Art eines irgenwo gefundenen Str. zu treffen, aber man hat doch eine Anzahl von Anhaltspunkten. Man darf z. B., wenn man einen die Brühe klarlassenden, langkettigen hämolysierenden Str. findet, der auf Agar maschenförmige Ansiedlungen zeigt, durchaus noch nicht einen Str. pyogenes diagnostizieren; es kommt eben, wie so oft bei Entscheidungen in bakteriologischen Fragen, neben den züchterischen Merkmalen die Herkunft der Keime in Betracht.

Aber zweifellos wäre man nicht so geneigt gewesen, verschiedene Str. als gleich anzusehen, wenn man jene Merkmale insbesondere das mikroskopische Bild der Ansiedlungen auf Agar ohne Blut und das Verhalten in der Lackmusmilch nicht außer acht gelassen hätte.

Nach unseren Erfahrungen und Untersuchungen sind die Pneumokokken, die ja den Str. zuzurechnen sind, verschieden von den übrigen pathogenen Str. und diese wieder von andern gut zu umschreibenden Streptokokkenarten. Mit dem Verfahren von M. Sch. B. ist es uns nicht gelungen, Pneumokokken in Modifikationen oder in andere Str. überzuführen. Wir vermögen ferner in keinen Beobachtungen an einschlägigen Krankheitsfällen eine Bestätigung dieser Ansicht zu finden. Wenn Berger und Engelmann meinen, daß bei einer Mischinfektion oder Nachkrankheit nach Pneumonie nicht immer ein neuer Erreger hinzugetreten sein muß, so daß eine Modifizierung der ursprünglich vorhandenen Erreger, also der Pneumokokken, vorliegen kann, so teilen wir diese Meinung nicht, sondern halten nach wie vor den Befund pathogener Str., z. B. bei eitriger Pleuritis nach Pneumonie, für eine Misch- oder Nachinfektion durch neu hinzugetretene Keime.

Rosenow ging in der Lehre von der oralen Sepsis von der Annahme aus, daß die in der Mundhöhle oder in erkrankten Zähnen vorhandenen Str. jederzeit in die pathogenen übergehen können.

Gegen diese Ansicht müssen wir Stellung nehmen. Zwar vermögen nach unserer Meinung gewisse, in der Mundhöhle wohnende Keime, vor allem Str., wie Schlirf (2) dargelegt hat, in die durch eine kariöse Oeffnung bloßgelegte, durch chemische, thermische oder mechanische Reize empfänglich gemachte Pulpa einzudringen und in ihr sowie in weiteren Gebieten des Zahnsystems eine Erkrankung (Pulpitis, Periodontitis) hervorzurufen. Aber diese als Halbparasiten anzusehenden Str., wie der Str. longissimus, lapillus u. a., gefährden den übrigen Körper nicht, denn sie sind nicht imstande, irgendwo eine Metastase oder gar eine allgemeine Sepsis zu erzeugen. Sie

sind sicherlich nicht die Ursache der vielen Erkrankungen, die von Rosenow und andern auf die fokale Infektion zurückgeführt werden.

Anderseits können sich auf dem Boden eines in der gedachten Weise veränderten Gewebes echte Parasiten entwickeln, also pathogene Str., die nicht ständige Bewohner der Mundhöhle sind, sondern zufällig von außen etwa durch Tröpfcheninfektion in sie gelangten. Sie haben sich vielleicht zunächst an einem passenden Ort, etwa auf den Mandeln angesiedelt und zu einer Infektion geführt, von der aus sie auf die empfänglichen Stellen übergehen und dort einen neuen Herd setzen, der dann allerdings zu einer ernsteren Gefahr für den Träger wird.

Wer glaubt, daß sich die in der normalen Mundhöhle vorkommenden Keime jederzeit in gefährliche Krankheitserreger verwandeln können, begeht denselben Fehler wie jemand, der behauptet, daß eine typhöse Erkrankung aus umgewandelten Colibakterien entstehen könne. Die Frage von den „wild gewordenen Coli-Bazillen" wird aber heute kaum mehr auftauchen. Denn die Kennzeichen der Erreger des Typhus, Paratyphus, der Ruhr und Pseudoruhr sind so klar festgelegt, daß niemand daran zweifelt oder gar versucht, sie künstlich ineinander überzuführen. Nur bei den Str., bei denen mit einigen Ausnahmen, wie bei verschiedenen Enterokokken von Kurt Meyer und Löwenstein, eine serologische Auseinanderhaltung nicht so gut gelingt, würdigt man die feineren gestaltlichen und züchterischen Merkmale weniger, läßt die verschiedenen Arten willkürlich ineinander übergehen und kommt schließlich dazu, nur einen einzigen Str. aufzustellen.

Dieser Str. soll nun bald als Str. pyogenes seu erysipelatos, bald als Pneumokokkus, bald als Str. lactis auftreten. Wer die bei den einschlägigen Erkrankungen bekannten Erreger lediglich als Zustandsänderungen desselben Str. auffaßt, der sich unter gegebenen Umständen in einen anderen und dann in den früheren Zustand wieder zurückverwandeln kann, darf nicht einmal von Varietäten sprechen. In der Gattung Streptococcus gäbe es demzufolge nur eine einzige Art, für die nach der Regel der Zweinamengebung erst ein Beiname aufgestellt werden müßte, etwa Str. communis oder irgendein anderer.

Niemand wird im Ernst einen solchen Vorschlag annehmbar finden. Es müssen ja auch die zahlreichen Str., die allenthalben als Krankheitserreger oder Fermentbildner oder Saprophyten verbreitet sind, verschieden sein. Sie können ebensowenig ineinander übergehen, wie Fäulniserreger in bekannte Krankheitserreger, aus Köpfchensporen bildenden Bodenbazillen werden nicht unter Hand Tetanusbazillen, aus Buttersäure- keine Gasbrandbazillen, aus harmlosen Wasserspirillen von heute auf morgen keine Choleravibrionen, selbst aus den tierischen Tuberkelbazillen trotz der nahen Verwandtschaft keine menschlichen. Wir selbst haben auch bei den verschiedenen Str. nichts derartiges beobachtet. Die Erreger der Pneumonie, des Erysipels usw. oder die aus Milch gezüchteten milchsäuernden Str. oder die mancherlei, von uns aus der Mundhöhle gewonnenen Str. wuchsen uns, mochten sie in der Kultur gehalten oder monatelang an Seidenfäden im Exsikkator aufbewahrt worden sein, wenn sie in der Fortzucht angingen, immer wieder als solche mit ihren bezeichnenden Eigenschaften. Gewiß kommen unter Umständen Schwankungen im Hämolysierungsvermögen, in der Fermentwirkung, in der Virulenz usw. vor, aber die Hauptmerkmale bleiben als solche bestehen.

Würden die Str. auf irgendwelche Einflüsse hin ihre Arteigen-

schaften wechseln und ineinander übergehen, dann wäre Mensch und Tier vor Selbstinfektion nie sicher, und ein Kindbettfieber müßte gelegentlich aus gewöhnlichen Scheidenkeimen entstehen können. Schließlich sähe man keine Verhütungsmöglichkeiten mehr und müßte entsagungsvoll auf jeden Fortschritt verzichten nach dem Worte Mephistos: „Ihr durchstudiert die groß' und kleine Welt, um es am Ende gehn zu lassen, wie's Gott gefällt".

Schlußsätze.

1) Um die Einheit der Streptokokken zu beweisen, haben Morgenroth und seine Mitarbeiter (= M.) Pneumokokken in Aufschwemmungen von Hefe oder Tierkohle gezüchtet und gleichzeitig oder nachträglich mit Optochin in abgestuften Verdünnungen behandelt, dadurch in eine angenommene Uebergangsstufe, die Modifikation A, verwandelt und aus ihr wenigstens in einem Teil der Versuche die Modifikation B und aus dieser, zweimal auch unmittelbar aus A, die Modifikation C hervorgehen sehen. Wir können beide nicht als Abkömmlinge von Pneumokokken und die Modifikation C nicht als Abkömmling von B ansehen, denn es sind Streptokokken, die unter sich wie von den Pneumokokken vollkommen verschieden sind (Ziffer 4). — 2) Infolgedessen können wir auch die Möglichkeit einer Rückverwandlung dieser Str. in Pneumokokken nicht zugeben. Sie ist von M. nur behauptet, aber weder von ihnen, noch von anderen Forschern, deren Ansichten sich in ähnlicher Richtung bewegten, bewiesen worden. — 3) Wir selbst haben in 9 nach dem Verfahren von M. durchgeführten Versuchen keine Modifikationen, sondern immer wieder nur die unveränderten echten Pneumokokken erhalten. Erst in einem 10. Versuch bekamen wir nach der Optochinbehandlung andere Str., und zwar solche, wie sie in der Hefe von Haus aus enthalten waren. Hier hatte die $^1/_2$stünd. Behandlung im Dampf nicht hingereicht, um die in der Hefe vorhandenen Str. abzutöten wie in dem gleichen Versuch 8. Bei den übrigen 8 Versuchen waren die Hefen von vornherein frei von Str. gewesen. — 4) Die avirulente Modifikation B, wie sie uns überlassen wurde, stimmt mit keiner der uns bekannten Str. vollständig überein, keinesfalls hat sie mit Pneumokokken etwas zu tun. Die uns gleichfalls überlassene avirulente Modifikation C ist ein auf Pferdeblut- (nicht auf Hammelblut-) Agar hämolysierender, auf Gelatine wachsender Str., der zur Gruppe der in Lackmusmilch Reduktase zeigenden Str. gehört, einer Gruppe, deren Hauptvertreter der Str. lactis ist. — 5) Derartige Reduktase bildende Str. fanden wir in 2 Trockenhefen und 1 Tierkohle des Handels. — 6) Die $^1/_2$stünd. Behandlung einer Hefeaufschwemmung im strömenden Dampf von der Temperatur des siedenden Wassers reicht nicht immer hin, die in ihr etwa enthaltenen Str. sicher abzutöten. — 7) Die von M. erhaltenen Modifikationen sind nach unserer Ansicht von außen hineingekommen, sei es durch unvollkommen sterilisierte Hefe oder Tierkohle, sei es

durch die Nährflüssigkeit, etwa mit dem der Brühe zugesetzten Blutserum, sei es auf eine andere, nicht aufgeklärte Weise. — 8) Verschiedene Str.-Arten, von denen einige beschrieben sind, lassen sich auf Grund ihrer gestaltlichen und züchterischen Merkmale unterscheiden. Erste Bedingung dabei ist die einwandfreie Trennung mit Hilfe fester, durchsichtiger Nährböden. Von den gestaltlichen Merkmalen ist die Größe der Diplokokken und die Länge der Ketten, von den wichtigeren züchterischen Merkmalen ist das Aussehen der Ansiedlungen auf der Agarplatte bei schwacher Vergrößerung und das Verhalten in Lackmusmilch hauptsächlich ausschlaggebend. — 9) Einen Uebergang einer Art in eine andere haben wir nicht beobachtet. — 10) Die Lehre von der oralen Sepsis und der fokalen Infektion darf nicht mit der Annahme des Uebergangs der verschiedenen Str. ineinander verquickt werden. Fände ein solcher statt, dann wären jederzeit Selbstinfektionen im menschlichen und tierischen Körper ausgehend von den Str. der physiologischen Mund-, Darm- und Scheidenflora zu gewärtigen. — 11) Die Aufstellung einer einzigen Str.-Art in der Gattung Streptococcus widerspricht allen Erfahrungen. — 12) Geben wir schließlich auf die gestellte Frage: „Was ist es mit der Einheit der Streptokokken?" Antwort, so lautet sie: „Nichts".

Schrifttum.

Allerhand, Heinrich, Zeitschr. f. Stomatol. 1924. S. 1 u. S. 96. — Ando, Koji, Kitasato Arch. of exp. Med. Vol. 6. 1923. p. 30—38. — Ando, Koji und Ito, Nariyoshi, Kitasato Arch. Vol. 5. 1922. p. 1—22. — Berger, E. und Engelmann, Br., Dtsch. med. Wochenschr. 1925, S. 1317. — Berger, E. und Jakub, Th., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 43. 1925. S. 235—242. — Bitter, Ludwig, und Buchholz, Leo Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 38—61. — Brown, James Howard, 1. Monographs of the Rockefeller Institute f. Med. Res. January 1919. No. 9; 2. Journ. of exp. Med. Vol. 31. 1920. p. 35—47; auch Studies from the Rockefeller Inst. (= Rockef. Inst.) Vol. 36. 1921. p. 503—515. — De Kruif, Paul H., Journ. of exp. Med. Vol. 35. 1922. p. 561—574; auch Rockef. Inst. Vol. 43. 1922. p. 79—92. — Engelmann, Br., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. 1926. S. 304—307. — Esten, W. H., Conn. Storrs. Agr. Exp. Sta. Bul. 59. 1909; zit. nach Salter. — Evans, Alice C., 1. Journ. Agr. Res. Vol. 13. 1914. p. 235. zit. nach Salter; 2. Journ. Infect. Dis. Vol. 18. 1916. p. 437. zit. nach Brown; 3. Lait., Vol. 5. 1925. p. 269—277; ref. Zentralbl. f. Hyg. Bd. 11. 1925. S. 18. — Fisk, Etta and Burry, Earl L., Journ. Infect. Dis. Vol. 30. 1922. p. 128—140 — Freund, R., Dtsch. med. Wochenschr. 1923. S. 1146. — Gins, Hch. Alex., Fortschr. d. Zahnheilk. Bd. 2. 1926. S. 306—326. — Hadley, Philip, Dental Cosmos. Vol. 66. 1924. p. 707—725. — Heim, Ludwig, 1. Lehrb. d. Bakt. Stuttgart (F. Enke). 6./7. Aufl. 1922; 2. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 101. 1923. S. 104—118; 3. Sitzungsber. d. physik. med. Soc. Erlangen. Bd. 54/55. 1922/23. S. 121—139; 4. Arch. f. Hyg. Bd. 95. 1925. S. 154—158. — Hilgers, W. E., Arch. f. Hyg. Bd. 94. 1924. S. 189—197. — Howell, Katharine M., Journ. Inf. Dis. Vol. 30. 1922. p. 299—307. — Hubert, R., Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 643. — Hunter, William, The Lancet. 1911. p. 79—86. — Ito, Nariyoshi, Kitasato Arch. Vol. 6. 1923. p. 39—48. — Knorr, Maximilian, Weichardts Ergebnisse. Bd. 7. 1925. S. 667—675. — Knorr, Maxim., und Gehlen, Walther, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 295—311. — Kraskowska, L., und Nitsch, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. S. 264—270. — Kruse, Walther, 1. Flügge, Mikroorganismen. 3. Aufl. Leipzig (F. C. W. Vogel). T. 2. 1896. S. 356; 2. Allgem. Mikrobiologie. Leipzig (F. C. W. Vogel). 1910. § 97. S. 286. — Kuczynski, Max H., und Wolff, Erich K., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. 1921. S. 119—128. — Kurth, H., Arb. a. d. Kais. Ges. Amt. Bd. 7. 1891. S. 389—470. — v. Lingels-

heim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891. S. 331—366. — Loeffler, Friedr., Mitt. a. d. Kais. Ges. Amt. Bd. 2. 1884. S. 421—499. — Mandelbaum, M., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. S. 26. — Meyer, Kurt und Löwenstein, Hans, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 47. 1926. S. 30—58. — Meyer, Kurt und Schönfeld, Hertha, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 99. 1926. S. 402 bis 416. — Morgan, H. J., and Avery, O. T., Journ. exp. Med. Vol. 38. 1923. p. 207—217; auch Rockef. Inst. Vol. 47. 1924. p. 459—469. — Morgenroth, J., Biberstein, H., und Schnitzer, R., Dtsch. med. Wochenschr. 1920. S. 337. — Morgenroth, J., Schnitzer, R., und Berger, E., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 43. 1925. S. 169—195. — Much, H., Med. Klinik. 1909. S. 1116. — Neufeld, Fred, Dtsch. med. Wochenschr. 1924. S. 1. — Patzschke, Walter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916. S. 227 bis 255. — Pieper, Ernst, Zentralbl. f. Hyg. Bd. 3. 1923. S. 433—440 und 513—524. — Raskin, Marie, Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889. S. 472. — Rosenow, E. C., 1. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. S. 284—287 (siehe auch bei Allerhand); 2. Journ. Inf. Dis. Vol. 14. 1914. p. 1; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 61. 1914. S. 588. — Salter, Reymond C., Americ. Journ. of Hygiene. Vol. 1. 1921. p. 154—181. — Salus, G., Med. Klinik. 1920. S. 1107. — Schlirf, Karl, 1. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. S. 104—118; 2. daselbst Bd. 99. 1926. S. 129—145. — Schnitzer, R. u. Pulvermacher, F., Münch. med. Wochenschr. 1923. S. 866. — Schnitzer, R., und Munter, F., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 93. 1921. S. 96—121. Bd. 94. 1921. S. 107—124. Bd. 99. 1922. S. 366—390. — Schottmüller, Hugo, 1. Leitfaden f. d. klinisch-bakt. Kulturmethoden. Berlin u. Wien bei Urban u. Schwarzenberg. 1923; 2. Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 1009. — Shermann, J., Journ. Bact. Vol. 3. 1918. p. 153; zit. nach Salter. — Wolff, Erich K., Virchows Arch. Bd. 244. 1923. S. 97—158. — Zangemeister, W., Münch. med. Wochenschr. 1910. S. 1268.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

Fig. 1. Pneumokokkus, Stammform von M. Sch. B., 1 Tag in Brühe gewachsen aus Mausmilz. Gramfärbung. 1000 ×.

Fig. 2. Modifikation B von M. Sch. B., 1 Tag in Brühe gezüchtet, Gramfärbung. 1000 ×.

Fig. 3. Modifikation C von M. Sch. B., 1 Tag in Brühe gezüchtet, Gramfärbung. 1000 ×.

Fig. 4. Pneumokokkus, Stammform von M. Sch. B. aus Mausblut auf Serumagar in 29 Std. gewachsen. 35 ×.

Fig. 5. Modifikation B, auf Serumagar in 24 Std. gewachsen. 35 ×.

Fig. 6. Modifikation C, auf Zuckeragar in 15 Std. gewachsen. 35 ×.

Fig. 7. Str. aus Scharlach auf Hammelblutagar 6 Tage alt, davon die beiden ersten Tage im Brutschrank gehalten, die folgenden Tage im Zimmer. Vollkommene Hämolyse. 3 ×.

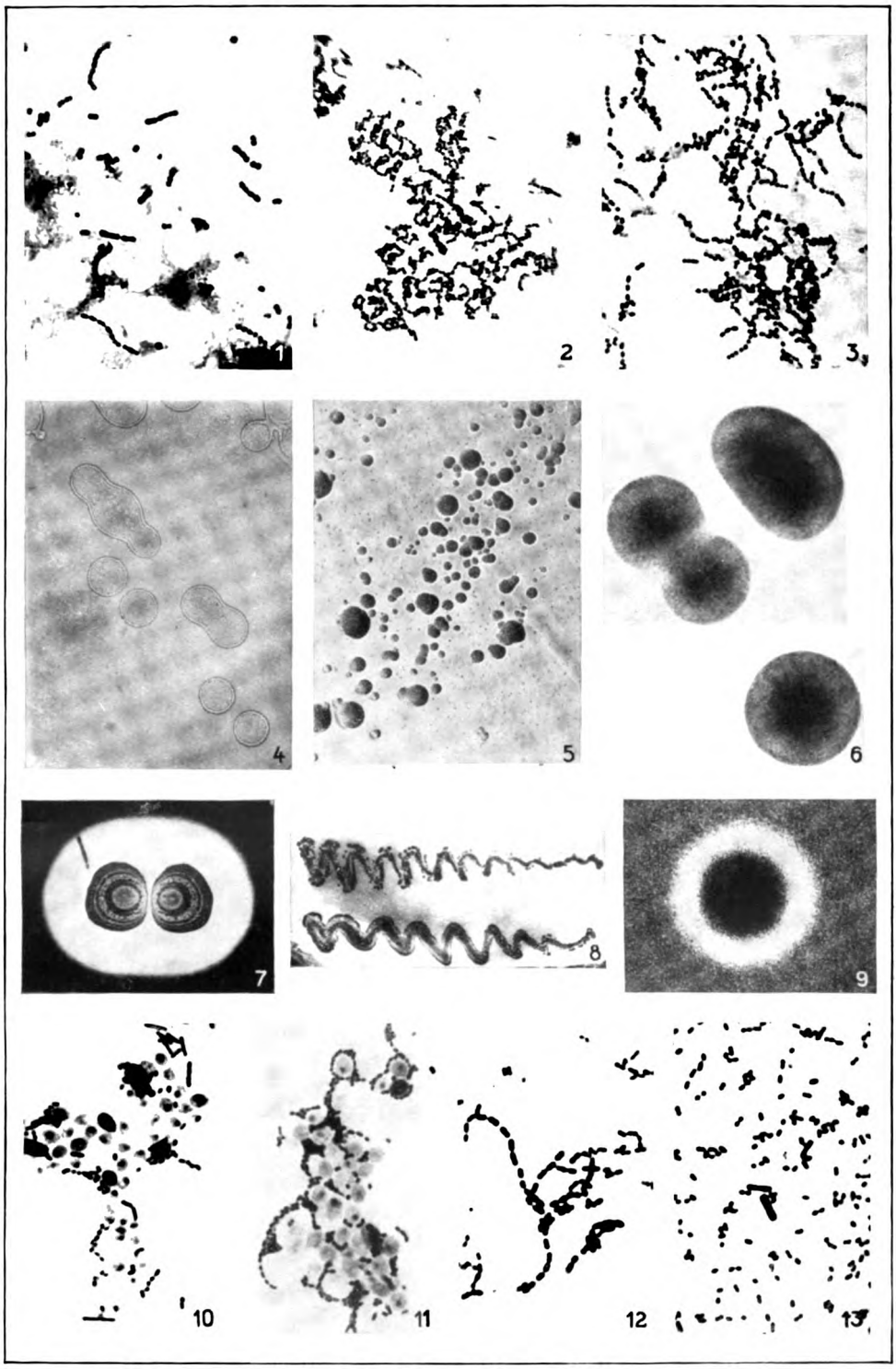
Fig. 8. Modifikation C auf Rinderserumagar $1^1/_2$ Tage alt. Die Ansiedelungen der zum Vergleich auf derselben Platte ausgestrichenen Modif. B und der Stammform des Pneumokokkus waren so zart gewachsen, daß sie im Lichtbild bei natürlicher Größe zu wenig hervortraten. 1 ×.

Fig. 9. Str. longissimus auf Hammelblutagar 3 Tage alt. Unvollkommene Hämolyse. 10 ×.

Fig. 10. Ausstrich aus einer $^1/_2$ Std. im Dampf gehaltenen 20proz. Aufschwemmung von Brennereihefe, versetzt mit gleichen Teilen einer Optochinlösung 1:5000 = 10proz. Hefeaufschwemmung + Optochin 1:10000, nach 24stünd. Stehen im Zimmer und folgender 12stünd. Bebrütung. Die in der Hefe vorhanden gewesenen Bakterien waren nicht alle abgetötet. Außer Stäbchen sind Str. gewachsen. Methylenblaufärbung. 1000 ×.

Fig. 11. Ausstrich aus einer $^1/_2$ Std. im Dampf gehaltenen 20proz. Aufschwemmung von Brennereihefe, versetzt wie vorhin mit Optochinlösung, und die Mischung mit Serumbrühe auf 1:32 verdünnt, dann 18 Std. bebrütet (entsprechend Versuch I von M. Schn. B., aber ohne Zusatz von Pneumokokken). Um die abgetöteten Hefen haben sich Str. entwickelt, die in der Hefe vorhanden, aber durch die Sterilisierung nicht abgetötet waren. Methylenblaufärbung. 1000 ×.

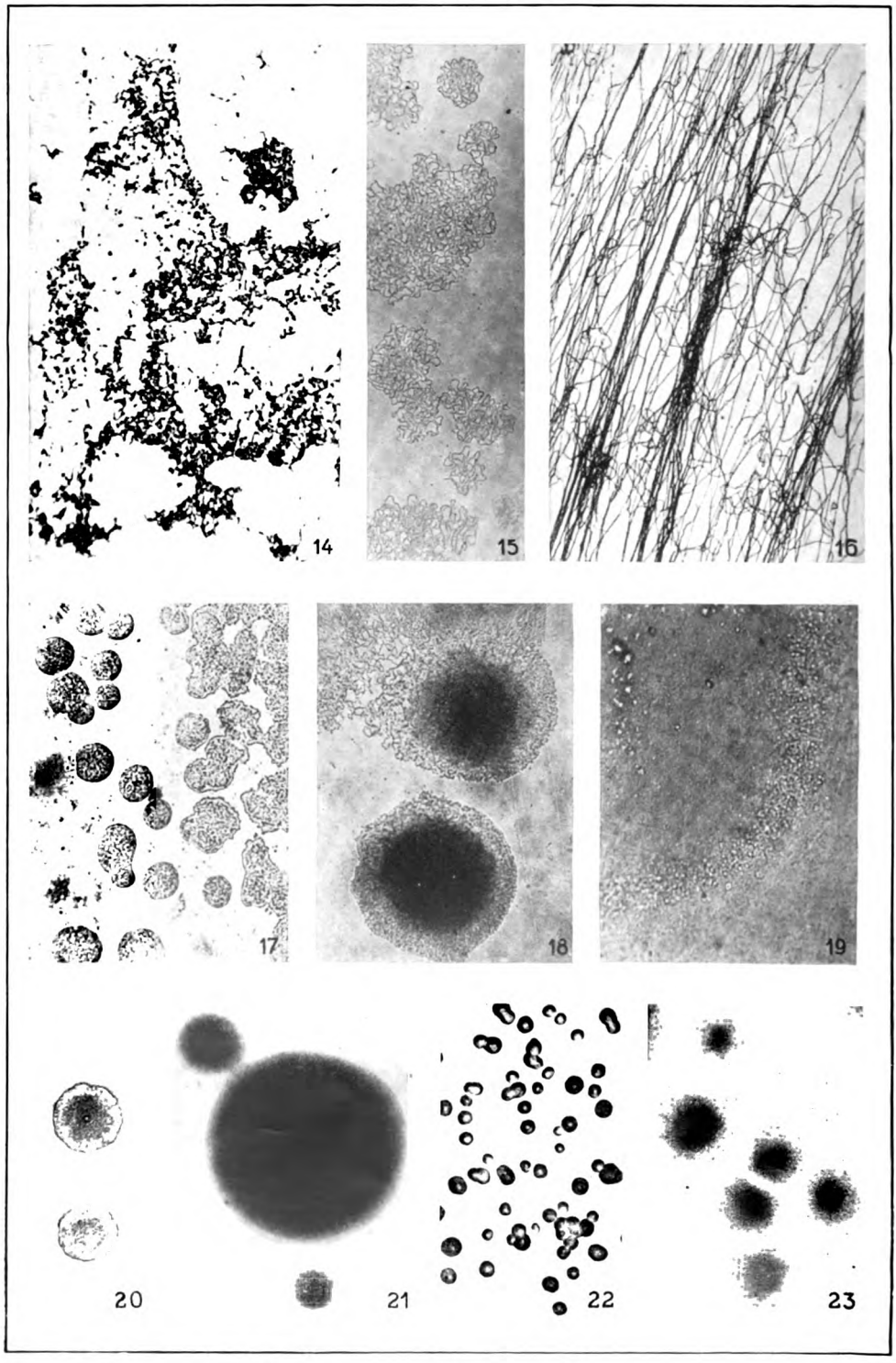
Fig. 12. Str. gezüchtet aus Levurinose „Blaes". 1 Tag in Leber-Leberbrühe. Gramfärbung. 1000 ×.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Fig. 13. Diplokokken aus Tierkohle nach 1tägiger Bebrütung gewachsen auf Zuckeragar. Er war aus einer Leber-Leberbrühe bestrichen worden, die 3 Tage zuvor mit Tierkohle (Merck) geimpft war, und in der sich reichlich Stäbchen entwickelt hatten. In der nun rein aëroben Aussaat wuchsen die mit ausgestrichenen Stäbchen nicht weiter, sondern nur die Diplokokken, die sich bei der weiteren Züchtung als kurze Str., ähnlich dem Str. lactis erwiesen.

Tafel II.

Fig. 14 und 16 zeigen den Unterschied der Ketten eines Str. pyogenes aus Scharlachniere (Fig. 14) und des Str. longissimus (Fig. 16) nach 1tägiger Züchtung in Brühe. Diese bilden ungemein lange, telegraphendrahtartig durch das Gesichtsfeld ziehende Ketten, bei jenen sind derartig lange, gerade Ketten nicht vorhanden. Gramfärbung. Mittelstarke Vergrößerung. 250×.

Fig. 15, 17 mit 23 zeigen den Unterschied im Aussehen der Ansiedelungen verschiedener Str., darunter maschenförmige, ferner geschlossene und geschlossene, aber am Rande maschige, diese von Str. pyogenes.

Fig. 15. Str. aus Pulpitis, 3 Tage auf Agar. Lockermaschige Ansiedelungen. 40 ×.

Fig. 17. Str. pyogenes aus Eiter, 1 Tag auf Agar. Geschlossene Ansiedelungen. 40 ×.

Fig. 18. Str. pyogenes, 1 Tag auf Agar mit Blutglyzerolat. Die Ansiedelungen sind im Innern dicker und von einem dünneren Hof umgeben, von dem aus bei der oben stehenden Ansiedelung vielleicht infolge Feuchtigkeit des Nährbodens eine maschenförmige Ausbreitung ausgeht. 40 ×.

Fig. 19. Str. halitus aus Bohrstaub von Zahnkaries. 2 Tage auf Agar mit Blutglyzerolat. Die hauchartigen Ansiedelungen waren mit bloßem Auge kaum vom Nährboden zu unterscheiden, deshalb hebt sich auch im Lichtbild der zarte Rand, der in der unteren Hälfte des Bildes (von rechts oben nach links unten) verläuft, kaum vom Untergrund ab. Innen sind in einer Zone lichtbrechende Punkte dicht gelagert. 40 ×.

Fig. 20. Str. viridans aus Endocarditis lenta (Kultur von Herrn Prof. Dr. Schottmüller in dankenswerter Weise überlassen). 3 Tage auf Zuckeragar. 35×.

Fig. 21. Str. opacus aus Zungenbelag. 3 Tage auf Zuckeragar. Kleinere und eine große Ansiedelung mit völlig undurchsichtigem Inneren und schmaler, etwas durchsichtiger Randzone. 50 ×.

Fig. 22. Str. lapillus aus Zahnkaries auf Zuckeragar. 50 ×.

Fig. 23. Str. aus Zahnkaries, im Ausstrich aus der mit Bohrstaub beschickten Leber-Leberbrühe nach 1 Tag auf Zuckeragar gewachsen. 35 ×.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten verschiedener tierischer Streptokokken in Lackmusmilch unter besonderer Berücksichtigung des Streptococcus mastitidis und Streptococcus lacticus.

[Aus der Lehrkanzel für Bakteriologie und Hygiene der Tierärztlichen Hochschule-Wien (Vorstand: Prof. Dr. Josef Schürer).]

Von Tierarzt Dr. **Johann Rudolf,**
Leiter der Tierärztlichen Beratungsstelle Wien der Wirtschaftsgenossenschaft der Tierärzte Oesterreichs.

Mit 1 Tafel.

Die große Verbreitung der Streptokokken in der Natur macht es begreiflich, daß bei der bakteriologischen Untersuchung von Marktmilch

in einem großen Prozentsatz diese Bakterien gefunden worden, ohne daß man mit den gegenwärtigen Untersuchungsmethoden einwandfrei feststellen könnte, ob es sich um harmlose Saprophyten oder pathogene Keime handelt. Die in der Milch vorkommenden Streptokokken können aus der Umgebung der Kuh, vom Futter, Streu, Luft, Melkgefäß, von der Hand des Melkers oder sonst vom Menschen, von den Schleimhäuten des Rindes und dessen Haut oder von einer Mastitis des Milchtieres herrühren. Daß durch das Melkpersonal menschliche Streptokokken in die Milch gebracht werden können, kommt vor, doch dürfte dies zu den Seltenheiten gehören. Den aus der Umgebung der Tiere und von ihnen selbst stammenden Streptokokken ist kaum eine pathogene Rolle zuzuschreiben und auch die Schädlichkeit der mastitisstreptokokkenhaltigen Milch, die sicher nach vorliegenden Beobachtungen — gelegentlich Erkrankungen des Menschen hervorruft, dürfte im allgemeinen überschätzt werden, denn bei der großen Verbreitung dieses Euterleidens müßten Erkrankungen des Menschen nach dem Genusse solcher Milch häufiger vorkommen.

Aus wirtschaftlichen und hygienischen Gründen, und weil Mastitismilch ein verdorbenes Lebensmittel ist, bleibt es selbstverständlich, daß die Bekämpfung der Mastitisstreptokokken zu erfolgen hat, und von euterkranken Tieren stammende Milch vom Konsum ausgeschlossen werden muß. Besonders nach Ernst (1) und eigenen Untersuchungen kann man den Galtstreptokokkus nach seinen morphologischen Eigenschaften (Staketform) unter Verwertung der in Galtmilch stets nachweisbaren Leukozytenfunde leicht erkennen. Wenn man aber bedenkt, daß oft nur von einer an Mastitis-streptococcica erkrankten Kuh die Milch unter ein großes Quantum Sammelmilch gemischt wird, wobei sowohl die Streptokokken, als auch die Leukozyten eine starke Verdünnung erfahren, ist wohl anzunehmen, daß in solchen Fällen die Beweisführung über beigemischte Galtmilch erschwert sein kann. Ferner gelangt bei der bakteriologischen Milchkontrolle die Milch in der Regel nicht sofort nach der Gewinnung zur Untersuchung, so daß besonders im Sommer andere saprophytische Keime sich stark vermehren und die pathogenen Streptokokken überwuchern. Dies gilt in erster Linie für den Streptococcus lacticus, der wohl selten in längeren Ketten wächst und meist charakteristische Lanzettform hat, wodurch er sich von den staketförmigen Galtstreptokokken unterscheidet. Aber auch der Galtstreptokokkus findet sich bei der Untersuchung von makroskopisch-pathologisch veränderter Milch galtkranker Kühe nicht immer in langen oder mittellangen Kettenverbänden, sondern es kommen nach meinen Beobachtungen selbst ganz kurze Ketten, oft auch nur Diplokokkenformen vor, bei denen die Staketform nicht ausgeprägt ist, und die zur Verwechslung mit dem Streptococcus lacticus führen können; erst nach gelungener Kultur auf Agar wachsen in Bouillon längere, oft auch lange Ketten heran, die aber in der Regel nicht die Staketform typisch zeigen.

Trotz zahlreicher Arbeiten über die Morphologie und Biologie des Streptococcus mastitidis (Gröning (2), Stähli (3), Gminder (4), Sven Wall (5), Müller (6), Ernst (1), Jones (7), Rudolf (16) u. a.) konnten bei dieser Streptokokkenart doch keine ihr nur allein zukommenden Eigenschaften ermittelt werden. So hat in letzter Zeit (1924) E. Mejlbo (8) an 101 Galtstämmen eine Differenzierung auf 28 verschiedenen, kohlenhydrathältigen, flüssigen Nähr-

böden versucht, und dadurch 25 Typen, die sich in 8 Gruppen zusammenfassen ließen, herausgefunden, ein Beweis, wie verschiedenartig sich die den gleichen Krankheitsprozeß verursachenden Kleinlebewesen verhalten können. Hammerschmidt (9) sagt in seinem Sammelbericht über den gegenwärtigen Stand der Milchbakteriologie, daß die Frage der Unterscheidungsmöglichkeit des Streptococcus mastitidis von dem in jeder Milch mitenthaltenen Streptococcus acidi lactici bis heute mit Hilfe kultureller Eigenschaften nicht gelöst werden konnte.

Bei der Durchsicht der Streptokokken-Literatur fällt auf, daß Lackmusmilch, die schon seit Jahrzehnten in der Bakteriologie in Verwendung steht, selten bei der Züchtung von Milchsäurestreptokokken, sowie von Streptokokken überhaupt in Verwendung kam, und wenn es der Fall war, wurde das Verhalten von Streptokokken auf diesen Nährböden scheinbar übersehen. So hat Puppel (10), auf dessen Arbeit ich im Laufe der Ausführungen wieder zurückkomme, bei seinen Untersuchungen über Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl Lackmusmilch verwendet, dabei aber den auftretenden Reaktionen keinen besonderen Wert beigelegt und das Wachstum der Kulturen nicht vom ersten Tag an verfolgt, sondern nach 72stünd. Kulturversuch bei 22° und 37° beurteilt und abgeschlossen. Heim (11), dessen Arbeit mir die Anregung zu meinen Untersuchungen gab, konnte bei Verwendung einer ca. 7proz., sterilen Lackmusmilch bei seinen Untersuchungen über Milchsäure und andere Streptokokken folgendes Verhalten feststellen: Ein mit einer Reinkultur von Streptococcus lacticus beimpftes Röhrchen zeigt nach 7—17stünd. Bebrütung durch eine von diesem Bakterium gebildete Reduktase eine vollkommen elfenbeinweiße Farbe, bis auf eine obere, schmale, bläuliche Zone. Bei stets weiß bleibender Rahmschichte beginnt nun unter dieser eine rosarote Verfärbung der Milch, die anfangs oft nur einen oder mehrere Millimeter breit ist, aber im Laufe der nächsten Tage langsam nach unten fortschreitet. Die Gerinnung setzt meist mit der Rosafärbung ein, wobei die Konsistenz des Milchnährbodens anfänglich mehr kleisterig und später fester wird. Nach Heim ist für die Erkennung des Streptococcus lacticus maßgebend, daß die vor Versuchsanstellung blaue Milch erst weiß wird und sich dann rötet, aber nicht umgekehrt. Streptokokken anderer Herkunft verhielten sich in Lackmusmilch verschieden. Zu seinen Vergleichsversuchen mit dem Streptococcus lacticus verwendete Heim Streptokokken menschlicher Herkunft, die er nach ihrem Verhalten auf Lackmusmilch in 3 Gruppen mit je 2—3 Untergruppen einteilen konnte.

1. Gruppe. Die Lackmusmilch wird weiß, wobei sie binnen 7—17 Std. geronnen ist und zugleich oben Rötung einsetzt, die in den folgenden Tagen nach unten fortschreitet (Streptococcus lacticus-Stämme, je 3 Stämme aus Bindehautentzündung, Stuhl und Harn und je ein Stamm aus Lumbalpunktat und aus einer Eiterpustel eines Rindes), oder sie wird weiß bis auf eine obere bläuliche Schichte, die später nach unten fortschreitet, mit weißlich wechselt, oder ins rötliche übergeht, dabei keine oder verspätete Gerinnung auftritt. Streptococcus lacticus mit vermindertem oder fehlendem Säuerungsvermögen, 4 Stämme aus Stuhl und 2 Stämme aus Vakzinelymphe.)

11. Gruppe. Die Lackmusmilch wird erst rot oder rosa, später am Boden der Eprouvette teilweise weiß, schließlich ganz rot und gerinnt vollständig oder nur teilweise (Streptococcus erysipelatis, Streptococcus pyogenes aus Phlegmone, Streptokokkus aus Parulis, Streptococcus halitus-Heim je 1 Stamm, Streptokokkus aus Pulpitis 2 Stämme und ein Stamm mit Pyo-

genestyp aus Marktmilch), oder sie wird erst wenig rosa, dann mitunter in der Kuppe weiß, später dauernd bläulichrot und bleibt flüssig, höchstens, daß am Boden etwas Gerinnsel auftritt. (Streptococcus pyogenes aus Eiter 1 Stamm.)

III. Gruppe. Die Lackmusmilch wird nie weiß, sie wird bald schwächer oder stärker rot und gerinnt (1 Stamm aus Milch), oder sie wird verschieden stark rot bei verspätet einsetzender oder ganz ausbleibender Gerinnung (Streptococcus pneumoniae, Diplococcus lanceolatus 3 Stämme, Streptokokkus aus Pulpitis, Parulis, Zahnkaries je 1 Stamm), und schließlich kann die Lackmusmilch unverändert bleiben, sich leicht aufhellen oder einen Stich in Violette bekommen mit Ausbleiben der Gerinnung (Streptococcus pyogenes verschiedene Stämme, je ein Stamm Streptococcus erysipelatis, longissimus und aus Bohrstaub trockener Zahnkaries und 2 Stämme aus Pulpitis).

Nach den Ergebnissen der Heimschen Untersuchungen stechen die Milchsäurestreptokokken durch ihr Verhalten auf Lackmusmilch besonders hervor.

Eigene Versuche.

Schon eingangs wurde auf die sich gelegentlich ergebenden Schwierigkeiten der Unterscheidung von Streptococcus mastitidis und Streptococcus lacticus besonders in Sammelmilch hingewiesen, weshalb ich es für angebracht hielt, das Verhalten des Streptococcus mastitidis auf Lackmusmilch zu prüfen, wobei ich auch andere menschliche und tierische Streptokokkenstämme zum Vergleich mit in die Untersuchungen einbezog. Gleichzeitig wurden auch Staphylo- und Diplokokken, wie ich sie als Nebenbefund in den Galtmilchproben fand und einige in der Milchindustrie Verwendung findende Bakterienstämme mit untersucht.

Herstellung der Lackmusmilch und Versuchsanordnung.

Zur Herstellung diente Milch aus einer Meierei mit hygienisch einwandfreier Milchgewinnung; es vergingen in der Regel 1—3 Std., bis die Milch ins Laboratorium gelangte, wo sofort auf 100 ccm Milch 7 ccm Lackmuslösung Kahlbaum zugesetzt wurden. Nach gutem Umschütteln wurden je 10 ccm der mattblau gefärbten Milch in Eprouvetten abgefüllt und an 3 aufeinanderfolgenden Tagen 20 Minuten im Dampftopf sterilisiert. Dann kamen die als gebrauchsfertig geltenden Lackmusmilchröhrchen noch einige Tage in die Brutkammer um eventuell trotz der dreimaligen Sterilisation noch nicht abgetötete Sporen zum Auskeimen zu bringen, was durch Farb- und Konsistenzänderung angezeigt wird. Einen nennenswerten Verlust durch Sporenbildner hatte ich nicht zu verzeichnen. Die Veränderung der nicht brauchbaren Röhrchen bestand in verschiedener Rötung, Aufhellung, stärkerer Bläuung, einige Proben wurden schmutziggelb; selten sah ich Gerinnung. (Eingehendere Untersuchungen über die Art der trotz Erhitzen im Dampftopf nicht zugrunde gehender Sporenbildner sollen gelegentlich angestellt werden).

Die zur Herstellung der Lackmusmilch verwendete Milch wurde vor der Zubereitung neuer Proben stets auf Säuregehalt untersucht, wobei eine Azidität von 8—9 Säuregraden nach Soxleth-Henkel festgestellt wurde. Milch mit einer höheren Azidität verwendete ich nicht, da solche Milch bei meinen Versuchen nicht so klare Reaktionen zeigte.

Der Farbton der unbeimpften Lackmusmilch ist aus Kulturröhrchen I der farbigen Abbildung ersichtlich. Nach dem 3maligen Sterilisieren dunkelt die Milch in der Regel etwas nach.

Sämtliche Galtstreptokokkenstämme wurden aus makroskopisch

schon erkennbaren, pathologisch veränderten Milchproben gewonnen, wobei ich meist Gelegenheit hatte, auch die klinische Untersuchung der erkrankten Kühe selbst durchzuführen. Die Streptococcus lacticus-Stämme erhielt ich aus Milch, die zur Topfengewinnung am warmen Ofen gehalten wurde. Aus der Molke konnte ich meist den lanzettförmigen Streptococcus auf Traubenzuckeragar in Reinkultur erhalten. Die Galtstämme gewann ich derart, daß ich aus den Bodensätzen auf Agarplatten ohne Zusatz Material mit dem Platinspatel ausstrich, womöglich eine Einzelkolonie in gewöhnliche, schwach alkalische Pferdefleischbouillon übertrug und nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt bei 37° C die Bouillonkulturen auf Reinheit und sonstige morphologische Eigenschaften prüfte. Nun wurden von den Bouillonkulturen geringe Mengen mit einer 1—2 mm-Oese in die Lackmusmilch gebracht. Die Veränderungen auf diesem Nährboden wurden meist nach 16—24 Std. und in der Folge täglich notiert. Die gleiche Reinheitsprobe wurde auch mit den aus anderen Laboratorien bezogenen Streptokokkenstämmen durchgeführt. Am Ende der Beobachtungszeit wurden aus der veränderten Lackmusmilch stets Ausstriche zur Gramfärbung hergestellt, um eventuelle Veränderungen der Milch, die durch bei der Sterilisation nicht abgetötete Keime bedingt sein könnte, ausschließen zu können.

In Zweifelfällen wurde auch noch eine Platte und manchmal auch noch eine Anaërobierkultur angelegt.

Das Untersuchungsmaterial umfaßt 152 Bakterienstämme, die sich folgendermaßen verteilen. Streptococcus mastitidis 68, Streptococcus lacticus 19 Stämme, pathogene Streptokokken von Krankheiten des Menschen 3, der Pferde 10, der Rinder 16, der Schweine 6, der Schafe und Katzen je ein Stamm. Schließlich gelangten zu Vergleichszwecken noch 28 Bakterienstämme, die gelegentlich in der Milch und anderem Material gefunden worden waren, zur Untersuchung. Zur besseren Uebersicht habe ich die Streptokokken nach ihrer Herkunft in Gruppen zusammengefaßt, da das Verhalten dieser Streptokokkengruppen ein übereinstimmendes war.

Streptococcus lacticus.

Die Gruppe umfaßt die Stämme mit der Bezeichnung La_1—La_{19}. Die Stämme La_1—La_{16} sind aus Milch gewonnen, die der natürlichen Säuerung ausgesetzt worden war. Stamm La_{17} ist ein einige Jahre alter Laboratoriumsstamm aus Prof. Přibrams Sammlung. Die Stämme La_{18} und La_{19} waren aus Milch von Kühen mit klinisch abgeheilter Mastitis erhalten worden.

Alle Stämme besaßen die von Heim angegebene Eigenschaft, die Lackmusmilch innerhalb 24 Std. zu entfärben. (Nach Heim ist dies schon nach 17 Std. der Fall.) Die Lackmusmilch hat eine elfenbeinweiße Farbe angenommen. Der Farbenumschlag erfolgt, wie ich mich bei stündlich vorgenommenen Besichtigungen überzeugen konnte, nicht plötzlich, sondern allmählich, er setzt bei manchen Stämmen gleichmäßig über die ganze Nährflüssigkeit ein, während er bei anderen Stämmen am Boden, oft auch in den der Oberfläche nahen Partien stärker war, wobei in der Mitte noch deutliche Blaufärbung bestand. Die aus Molke frisch gewonnenen Stämme brachten die Lackmusmilch nach meinen Beobachtungen innerhalb der ersten 24 Std. zum Gerinnen. (Stamm La_1—La_{16}). Die Stämme La_{17}, La_{18} und La_{19} konnten die Milch erst nach

4 Tagen gerinnen machen. Nach der Heimschen Einteilung sind es Lacticus-Stämme mit vermindertem Säuerungsvermögen. La_{17} hat wahrscheinlich durch die lange künstliche Züchtung sein ursprünglich starkes Säuerungsvermögen verloren. Ob es sich bei La_{18} und La_{19} um pathogene Stämme handelt, da sie aus Milch gewonnen wurden, die von Kühen mit abgeheilter Mastitis stammte, wage ich nicht zu entscheiden, da im Zentrifugalbodensatz der Milchproben Leukozyten ganz vereinzelt gefunden wurden, glaube ich, daß es sich auch hier um nicht pathogene Lacticusstämme handelt, die bei der Probenentnahme in die Milch gelangt sein könnten.

Nach stattgefundener Gerinnung setzt Rötung der Milch ein, die unter der stets unverändert bleibenden Rahmschichte bei manchen Stämmen schon nach 24 Std. 1—3 mm breit ist, und im Laufe der Tage langsam nach unten fortschreitet, wobei sich die noch weiße Milchsäule immer scharf von der roten Schichte absetzt. Nach meinen Feststellungen beginnt die Rötung gleich mit einem intensiven Farbton (siehe Farbtafel Fig. III), der sich auch nach wochenlangem Stehen im Brutschrank nicht änderte, stets unter der Fettschichte. Einige Stämme waren imstande, die geronnene Lackmusmilch im Verlaufe von 4—8 Tagen bis auf den Boden der Eprouvette zu röten, während bei anderen die Rötung in der gleichen Zeit nur um 1—6 cm nach abwärts rückte und auch bei vierzehntägiger Bebrütung den Boden nicht erreichte.

Eine auffällige Ausscheidung von Milchserum konnte nicht gesehen werden, sondern die geronnene Lackmusmilch hatte eine gleichmäßig verteilte schmierige Konsistenz.

Um festzustellen, ob die Haltung der Laktikusstämme auf künstlichen Nährböden die beschriebenen Eigenschaften beeinflußt, wurden einige Stämme nach einem halben Jahr abermals in Versuch genommen. Nach dieser Zeit konnten Abweichungen wesentlicher Natur nicht gefunden werden; nur einige Stämme brachten die Milch um 2—4 Stunden später zur Gerinnung.

Morphologisch zeigten besonders die jungen Stämme des Streptococcus lacticus die von Kruse (12) besonders betonte und von den meisten Autoren anerkannte Lanzettform, die aber nicht immer deutlich zu erkennen sein muß, was wohl auch mit der Färbetechnik zusammenhängen mag. Bei Färbung mit verdünnter alkalischer Methylenblaulösung erscheinen die besonders aus Milch oder aus einer Agarkultur gewonnenen Bakterien zarter und fast ausschließlich in Diploform mit zugespitzten Enden; kürzere Kettenverbände sind selten. In Nährbrühe tritt die Kettenbildung stärker hervor und es kann auch die Lanzettform deutlicher werden. Bei alten Stämmen kann die typische Form verloren gehen, es können rundliche, manchmal auch zur Abplattung neigende Kokkenglieder gesehen werden. Bei Anwendung der Gramfärbung erscheinen die Einzelglieder in der Regel etwas größer und plumper, der Lanzetttyp ist gar nicht zu sehen oder sehr verschwommen.

In der Pferdefleischbouillonkultur war kein von anderen Streptokokken abweichendes Verhalten zu sehen. Zuerst gleichmäßige Trübung, dann Klarwerden der Bouillon unter Bildung eines feinflockigen, manchmal mehr krümeligen Bodensatzes. Die Lebensfähigkeit des Streptococcus lacticus dürfte eine ziemlich große sein, denn 4—6 Monate alte Kulturen hatten im Agarstiche ihre Lebensfähigkeit noch nicht eingebüßt.

Streptococcus mastitidis.

Zur Untersuchung gelangten 68 Stämme, die aus Milch von an Mastitis streptococcica erkrankten Kühen gezüchtet worden sind und unmittelbar nach gewonnener Reinkultur sowohl aus Bouillon als auch von der Platte in die Lackmusmilch gebracht wurden (Doppelversuch). Nach den Veränderungen, welche die Lackmusmilch erfuhr, konnten die Galtstreptokokken in zwei Gruppen eingeteilt werden.

Die Gruppe I ist die größere und umfaßt 51 Stämme. Die Milch war nach 24 Stunden geronnen und in der Regel in ihrer ganzen Masse gleichmäßig rot, von der gleichen Farbenuance als die Rötung beim Streptococcus lacticus. Bei Besichtigung vor 24 Stunden konnte nie ein weißer Farbton gesehen werden, sondern die Lackmusmilch nahm zuerst einen violetten Farbton an, der allmählich in rot umschlug. Nur bei wenigen Stämmen hatte die Rötung nach 24 Stunden noch nicht die volle Intensität erreicht und nahm in den folgenden 24 Stunden noch zu, wobei die Rötung am Boden der Röhrchen oder unter der Rahmschicht manchmal etwas stärker war und sich schließlich gleichmäßig über den ganzen Nährboden verteilte.

In die Gruppe II mußten 16 Stämme eingereiht werden. Diese unterschieden sich von denen der Gruppe I dadurch, daß die Lackmusmilch nach 24 Stunden wohl mehr oder weniger stark gerötet war, doch die vollständige Gerinnung der Milch war bei 13 Stämmen erst nach Ablauf von 48 Stunden feststellbar, und drei Stämme hatten sie erst nach 3 Tagen geronnen gemacht.

Die 3 letztgenannten Stämme stammten aus pathologisch veränderter Milch von Kühen eines Bestandes. Nach dem klinischen Euterbefund, dem makroskopischen Aussehen und dem sehr hohen Leukozytengehalt des Milchbodensatzes mußte Galt vorliegen. Im Ausstrich war eine Reinkultur von lanzettförmigen Diplokokken festzustellen, die in Bouillon zu kurzen Ketten auswuchsen. Auch hatte das untere Drittel der Lackmusmilch einen weißlichen Farbton angenommen, der in den folgenden Tagen erst in rot umschlug. Eine Verunreinigung mit Streptococcus lacticus glaube ich in diesen Fällen ausschließen zu dürfen, da die Milch steril gewonnen und eine halbe Stunde später schon zur Verarbeitung kam, und dieser Versuch mit neuerdings gewonnenen Sekretproben noch zweimal mit dem gleichen Ergebnis wiederholt wurde.

Dieser Befund spricht dafür, daß die im Stalle vorkommenden Laktikusstämme unter gewissen Voraussetzungen imstande sein dürften, auch Eutererkrankungen gleich dem Galtestreptokokkus hervorzurufen. Bei mehrfacher Passage durch das Kuheuter dürften die den Streptococcus lacticus charakterisierenden Eigenschaften verloren gehen. Bei meinen 3 Stämmen spricht die Lanzettform aus dem Nativausstrich und das Verhalten auf der Lackmusmilch, Weißfärbung des unteren Teiles der Milch dafür, daß diese Streptokokken dem Streptococcus lacticus nahestehen bzw. echte Laktikusstämme sein dürften. Gminder (13) konnte künstlich durch Injektion von saprophytischen Streptokokken in das Ziegeneuter bei diesen Tieren eine Mastitis hervorrufen. Auch Hašak (14) konnte feststellen, daß die Streptokokkenmastitiden in mit ansteckendem Scheidenkatarrh stark verseuchten Beständen häufig vorkommen. Es ist deshalb nicht von der Hand zu weisen, daß auch der Streptococcus lacticus Mastitiden hervorruft, durch seinen

Aufenthalt im Euter eine Virulenzsteigerung erfährt, seine morphologischen und biologischen Eigenschaften ändert und schließlich als typischer Galtstreptokokkus erscheint, und auch Burri (15) kommt nach seinen Untersuchungen zu dem Schlusse, daß zwischen dem Streptococcus lacticus und den Mastitisstreptokokken eine enge Verwandtschaft besteht. Dadurch könnte das so häufige Auftreten der Streptokokkenmastititiden in jenen Fällen aufgeklärt werden, bei welchen eine Einschleppung durch zugekaufte Tiere ausgeschlossen werden kann. Aus dem gleichen Grunde könnten auch andere im Stalle vorkommenden saprophytischen Streptokokkenarten imstande sein, Eutererkrankungen hervorzurufen, wobei auch diese die morphologischen und biologischen Eigenschaften des Streptococcus mastitidis annehmen.

Nach der Herkunft der Mastitisstämme von sporadischen oder seuchenhaften Fällen und nach der Kettenlänge konnte ein Unterschied im Verhalten auf der Lackmusmilch nicht gesehen werden. Alle Stämme hatten das eine gemeinsam, daß sie in diesem Nährboden als Diplostreptokokken, sehr oft nur als Diplokokken wuchsen, kleinere und zartere Einzelglieder als in der Fleischbouillon hatten. Wurde aus der Lackmusmilchkultur wieder eine gewöhnliche Pferdefleischbouillon infiziert, so sah man wieder Kettenwachstum.

Einige Male konnte auch gesehen werden, daß Proben, die in den ersten 2—3 Tagen das typische Verhalten für den Galtstreptokokkus zeigten, plötzlich eine Aufhellung des Rotes bis zur ausgesprochenen Weißfärbung zeigten. Als Ursache dieser Erscheinung wurde immer eine Verunreinigung mit einem langen grampositiven Stäbchen ermittelt, da eine Reinkultur dieses Stäbchens die Lackmusmilch tatsächlich entfärbte.

Das Verhalten der Galtstreptokokkenstämme auf Lackmusmilch ist somit eine weitere Bestätigung, daß es keine verschiedenen Arten von Galtstreptokokken gibt, wie schon Grönig (2), Stähli (3), Gminder Kitt (13) und Rudolf (16) feststellen konnten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Matitisstreptokokken auf der Lackmusmilch dadurch auffallen, daß sie dieselbe nie weiß zu machen imstande sind; sie wird bald schwächer oder stärker rot und gerinnt, oder die Gerinnung setzt bei bestehender Rotfärbung verspätet ein. Sie würden somit in die Gruppe III der Heimschen Einteilung einzureihen sein.

Menschenpathogene Streptokokkenstämme.

Leider hatte ich nur Gelegenheit, 3 alte Laboratoriumsstämme in meine Versuche einzubeziehen, und zwar je einen Stamm Streptococcus Pasteurella pneumoniae Rotterdam, Streptococcus pyogenes Rosenbach, Streptococcus scarlatinae.

Der erstere hatte die Milch nach 24 Std. aufgehellt und nach 4 Tagen zur Gerinnung gebracht, wobei reichlich klares Serum mit violett gefärbtem Gerinnsel zu sehen war. In der Pferdefleischbrühe war dieser Stamm nur in Form von plumpen Diplokokken gewachsen, während aus der Milch meist Ketten bis zu 10 Gliedern zu sehen waren. Der Streptococcus pyogenes Rosenbach veränderte die Lackmusmilch nicht; die Kettenlänge hatte in der Milch bedeutend zugenommen. Der dritte Stamm färbte die Milch nach 24 Std. leicht violett, Gerinnung blieb aus, die Kettenlänge nahm zu.

Irgendwelche Schlüsse können aus dem kleinen Untersuchungsmaterial wohl nicht gezogen werden.

Streptokokkenstämme bei anderen Tierkrankheiten.

a) Pferd. Geprüft 10 Stämme, und zwar 6 Drusestämme, 3 Fohlenseptikämie- und 1 Fohlenlähmestamm. Sie führen die Bezeichnung Pf. 1—10. Die Stämme Pf. 1—6 sind Drusestämme, Stamm Pf. 7 ist ein Fohlenlähmestamm und Stämme Pf. 8—10 sind Fohlenseptikämiestämme. Zur besseren Uebersicht sollen die Ergebnisse in der anschließenden Tabelle veranschaulicht werden.

Tabelle I.

Stamm Nr.	Krankheit	Alter des Stammes	Veränderungen der Lackmusmilch nach			Anmerkung
			24 Stunden	48 Stunden	in den folgenden Tagen	
Pferd 1	Druse	einige Jahre	ganz weiß und geronnen	1 cm von oben rot	nach 14 Tagen Rötung bis auf den Boden	Echter Strept. lacticus
„ 2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
„ 3	„	4 Jahre	unverändert	leichte Aufhellung, nicht geronnen	nach 8 Tagen nicht geronnen, sonst wie vorher	—
„ 4	„	2 Jahre	dgl.	dgl.	dgl.	—
„ 5	„	frisch	„	„	„	—
„ 6	„	dgl.	„	„	„	—
„ 7	Fohlenlähme	1½ Jahre	ganz weiß, nicht geronnen	geronnen, ½ Röhrchen von oben rot	nach 4 Tagen bis auf den Boden rot	Echter Strept. lacticus, auch morphologisch
„ 8	Fohlenseptikämie	1 Jahr	leicht aufgehellt, nicht geronnen	violett, nicht geronnen	nach 8 Tagen nicht geronnen, leicht rötlich	—
„ 9	dgl.	¾ Jahr	dgl.	dgl.	dgl.	
„ 10	„	dgl.	fast weiß, nicht geronnen	weiß, geronnen, ½ Röhrchen von oben rot	nach 4 Tagen ⅓ d. Röhrchens von oben rot	Strept. lacticus mit verspäteter Gerinnung

Es verhalten sich somit nicht einmal die Pferdestämme von der gleichen Krankheit in der Lackmusmilch einheitlich.

Beachtenswert ist, daß die Drusestämme Pf. 1 und 2, die vom gleichen Krankheitsfall herrühren, aber in verschiedenen Laboratorien weitergezüchtet worden waren, sich bei meinen Versuchen gleich verhielten, was wohl gegen eine eventuelle Verunreinigung spricht. Stamm Pf. 7 von Fohlenlähme und Stamm 10 von Fohlenseptikämie zeigten die Eigenschaften eines Lacticus mit herabgesetztem Gerinnungsvermögen. Die übrigen Pferdestämme veränderten die Lackmusmilch in keiner auffälligen Weise.

b) Rind. Von dieser Tierart konnte ich 16 Stämme untersuchen; die Stämme 1—15 stammen von Kälberkrankheiten, 4 Kälberlähme, 2 Ruhr- und 9 Kälberseptikämiefälle und Stamm R. 16 ist ein alter Streptococcus vaginitidis infect. bovis.

Sämtliche Kälberstämme veränderten die Lackmusmilch wie ein

Strept. lacticus. Auch morphologisch war in allen Fällen die Lanzettform besonders deutlich aus den Lackmusmilchkulturen nachweisbar. Die untersuchten Kulturen waren teils ganz frisch gezüchtete, teils bis zu $2^1/_2$ Jahren alte Stämme. Nach dem Alter war keine Gesetzmäßigkeit im Verhalten zu ermitteln. Bei 10 Stämmen war wohl die Entfärbung nach 24 Stunden vollständig, doch die Gerinnung trat verspätet nach 48—50 Std. ein (Lacticusstämme mit vermindertem Gerinnungsvermögen).

Es scheinen somit die, die Kälberkrankheiten hervorrufenden Streptokokken dem Streptococcus lacticus nahe verwandt zu sein, ja es ist möglich, daß es sich hier um virulent gewordene Laktikusstreptokokken handelt.

c) Schweine. Untersucht wurden 6 Stämme, und zwar 4 Stämme von Streptokokkenseptikämie, je 1 Stamm von einer Nabelinfektion und einer Mischinfektion; sie führen die Bezeichnung Sch. 1—6. Die Veränderungen in der Lackmusmilch sind in der Tabelle II übersichtlich dargestellt.

Tabelle II.

Stamm Nr.	Krankheit	Alter des Stammes	Veränderungen der Lackmusmilch nach			Anmerkung
			24 Stunden	48 Stunden	in den folgenden Tagen	
Schwein 1	Septikämie	frisch	etwas aufgehellt, nicht geronnen	fast weiß, nicht geronnen	nach 3 Tagen weiß, $^1/_3$ von oben rot, geronnen	wie Lacticus mit vermindertem Säuerungsvermögen
„ 2	dgl.	dgl.	dgl.	2 cm von unten weiß, darüber violett, nicht geronnen	nach 5 Tagen rötlich-violett, nicht geronnen	Im Ausstrich Lanzettform
„ 3	„	1 Jahr	unverändert	unverändert	nach 8 Tagen violett, nicht geronnen	—
„ 4	Nabelinfektion	2 Jahre	rötlich, nicht geronnen	1 cm von unten weiß, sonst rot, nicht geronnen	nach 6 Tagen weiter aufgehellt, nicht geronnen	—
„ 5	aus der Lunge eines Kümmers	dgl.	ganz weiß, nicht geronnen	$^1/_2$ cm von oben rot, nicht geronnen	nach 3 Tagen geronnen, Rötung schreitet langsam nach unten	wie Lactus mit vermindertem Säuerungsvermögen
„ 6	Mischinfektion mit Paratyphus	3 Jahre	dgl.	leicht rötlich, nicht geronnen	nach 8 Tagen Stich ins Rötliche, nicht geronnen	—

Aus den Versuchen mit von Schweinekrankheiten gewonnenen Streptokokken ersehen wir, daß es auch hier Streptokokken gibt, die dem Laktikus sehr nahestehen oder als echte Laktikusstämme mit vermindertem Gerinnungsvermögen angesprochen werden können. Es dürfte somit bei den Streptokokkenerkrankungen der Schweine gleich den Kälbererkrankungen nicht von der Hand zu weisen sein, daß der Streptococcus lacticus durch Erlangung virulenter Eigenschaften

als Ursache von Erkrankungen auch bei Schweinen angenommen werden muß, dies um so mehr, als die Streptokokkenerkrankungen bei Saug-, besonders aber bei Abspänferkeln vorkommen, also bei Tieren, die infolge von Futterwechsel einen mehr oder minder stark alterierten Magendarmtraktus besitzen; da auch häufig sauer gewordene Milch gefüttert wird, könnte es wohl möglich sein, daß durch infolge Virulenzsteigerung des mit dem Futter aufgenommenen Milchsäurestreptokokkus tödlich verlaufende Erkrankungen der Tiere bedingt werden. Die Ansicht erfährt auch durch die bei Kindern angenommenen Streptokokkenenteritititiden, welche besonders durch die Escherichsche Schule behauptet werden, eine Stütze, obwohl diese Annahme von vielen Seiten bestritten wird.

d) Schaf und Katze. Von diesen Tierarten konnte ich nur je einen Stamm untersuchen. Der Schafstamm wuchs in der Pferdefleischbouillon in Ketten bis zu 1000 Einzelgliedern. Bei 10 Tage dauernder Bebrütung gerann Lackmusmilch nicht. Die lichtblaue Milch schlug nach 24 Std. in violett, nach 48 Std. in lichtrot um, war nach 5 Tagen noch stärker gerötet und hatte nach 10 Tagen wieder den violetten Farbton, der nach 24 Std. Versuchsdauer gesehen worden war, angenommen. Der Katzenstreptokokkenstamm stammte von der Jongschen Katzenseuche aus der Králschen Sammlung. Auch er konnte die Lackmusmilch nicht zum Gerinnen bringen, wobei sie sich schwach rot färbte und vom 3. Beobachtungstag an von unten beginnende Weißfärbung einsetzte, die aber nicht ganz vollständig wurde, sondern einen Stich ins Rötliche hatte.

e) Kokken aus Milch, Rinder- und Menschenharn. Um beurteilen zu können, ob der Streptococcus mastitidis und der Lacticus in der Lackmusmilch für diese beiden Bakterienarten geltende typische Veränderungen hervorrufen, war es geboten, auch das Verhalten anderer in der Milch vorkommender Bakterien, die im Nativausstrich oder in der Kultur mit Galtstreptokokken verwechselt werden können, auf diesem Nährboden zu untersuchen. Zur Prüfung kamen 10 Stämme plumper Diplokokken, 1 Stamm kleiner, zarter Diplokokken, 2 Stämme Diplokokken mit Schleimbildung in gewöhnlicher Bouillon, 6 Staphylokokkenstämme, sämtliche aus Milch gezüchtet, ferner aus Rinderharn 4 Diplokokken und 1 Staphylokokkenstamm, aus der Scheide des Rindes 1 Diplokokken- und 1 Streptokokkenstamm und aus Menschenharn je 1 Diplostreptokokken- und Diplokokkenstamm.

Keiner von den 28 Stämmen veränderte die Lackmusmilch in einer mit dem Streptococcus mastitidis oder lacticus übereinstimmenden Art und Weise. Von den plumpen Milchdiplokokken ließen 3 Stämme die Lackmusmilch unverändert, 3 Stämme hellten sie leicht auf und 3 machten sie schwach lichtviolett. Von den Staphylokokken waren 2 Stämme imstande, die Milch schwach rötlich zu färben. Die beiden Diplokokkenstämme mit schleimigem Wachstum riefen eine starke Serumausscheidung mit scheinbarer Auflösung des ausgeschiedenen Kaseïns hervor. Der Diplokokkenstamm mit zarten Gliedern brachte die Lackmusmilch nach 48 Std. unter Rötung zur Gerinnung, entfärbte sie aber in den folgenden 3 Tagen vollkommen. Der aus Menschenharn gezüchtete Diplostreptokokkus brachte die Milch wohl nicht zur Gerinnung, doch nahm sie eine schmutzigweiße Farbe an, während der Menschenharndiplokokkus die Lackmusmilch nicht gerinnen machte, ihr aber einen Stich ins Violette verlieh. Dem letztangeführten Diplokokkus gleiches Verhalten hatte auch der Diplokokkus aus der Scheide des

Tabelle III.

Bezeichnung der Stämme	Verhalten auf Lackmusmilch nach			Anmerkung
	24 Stunden	48 Stunden	in den folgenden Tagen	
Strept. lacticus La 1—La 16	elfenbeinweiß, bei manchen beginnende Rötung unter der Fettschichte, geronnen	Rötung schreitet gleichmäßig von oben nach unten verschieden schnell fort		frisch gezüchtete Stämme
Strept. lacticus La 17—La 19	elfenbeinweiß, nicht geronnen	Gerinnung erst nach 4 Tagen, Rötung wie bei La 1—16		La 17 ein alter Stamm, La 18 u. 19 von einer abgeheilten Mastitis
Strept. mastitidis 51 Stämme	gleichmäßig rot, geronnen	—		Bei einig. Stämmen nahm die Intensität der Rötung in den folgenden Tagen zu
Strept. mastitidis 16 Stämme	Rötung, nicht geronnen	13 Stämme geronnen	3 Stämme erst nach 3 Tagen geronnen	Galtstämme mit vermindertem Gerinnungsvermögen
Strept. von Kälberkrankheiten R 1—R 5	elfenbeinweiß, bei manchen beginnende Rötung unter der Fettschichte, geronnen	Rötung schreitet gleichmäßig von oben nach unten verschieden schnell fort		Verhalten wie ein echter Lacticus
Strept. von Kälberkrankheiten R 6—R 15	Wie La 17—19	Wie La 17—19		Verhalten wie Lacticus mit vermindert. Gerinnungsvermögen
Strept. vaginitid. bovis R 16	dgl.	dgl.		dgl.
Strept. von Schweinekrankheiten Sch 1 u. 5	weiß, oder aufgehellt, nicht geronnen	beginnende Rötung und Gerinnung, bzw. ganz weiß	Nach 3 Tagen geronnen und fortschreitende Rötung	dgl.
Strept. von Schweinekrankheiten Sch 2, 3, 4 u. 6	verschiedenes Verhalten	keine Gerinnung	—	—
Druse-Pferd Stamm Pf 1 u. 2	ganz weiß, geronnen	Wie La 1—16	Wie La 1—16	Verhalten wie echter Lacticus
Druse-Pferd Stamm Pf 3 bis 6	unverändert	leichte Aufhellung	keine weiter auffallende Veränderung	—
Fohlenkrankheiten Stamm Pf 7 u. 10	ganz weiß, nicht geronnen	Beginnende Rötung und Gerinnung	Rötung schreitet langsam zu Boden	Wie Lacticus mit verspäteter Säuerung
Fohlenkrankheiten Stamm Pf 8 u. 9	leicht aufgehellt, nicht geronnen	violett, nicht geronnen	Nach 8 Tagen nicht geronnen, leicht rötlich	—

Rindes, während sich der Streptokokkus der gleichen Herkunft als ein Lacticus mit abgeschwächtem Säuerungsvermögen zeigte. Gerinnung unter Entfärbung war nur in dem unteren zweiten Drittel des Röhrchens zu sehen, die darüberstehende Milch färbte sich rot, ohne je zu gerinnen.

Zwecks besserer Uebersicht sind in Tabelle III die Ergebnisse der Veränderungen der untersuchten Stämme auf Lackmusmilch nach dem übereinstimmenden Verhalten in Gruppen zusammengefaßt, wobei ich die menschenpathogenen Stämme und den Katzen- und Schafstamm nicht mit einbeziehe, da die Zahl der untersuchten Stämme zu gering ist.

Aus Tabelle III ergibt sich, daß die Laktikus- und Galtstreptokokkenstämme in Lackmusmilch ein charakteristisches Verhalten zeigen, das seiner Einfachheit halber berufen sein dürfte, in der Milchbakteriologie und ganz besonders bei der amtlichen Milchkontrolle eine Rolle zu spielen. Auffällig ist noch weiter, daß besonders die Streptokokken von Kälberkrankheiten und ein Teil der Schweinestämme die gleiche Reaktion hervorriefen, als die echten Laktikus-Stämme, was auf einen Zusammenhang dieser tierpathogenen Streptokokken mit dem Streptococcus lacticus hindeuten dürfte.

Auch Mejlbo (17) konnte Diplokokken vom Lanzett-Typ in der bakteriologischen Fleischbeschau ausschließlich nur bei Kälbern finden. Es ist anzunehmen, daß auch er den virulenten Streptococcus lacticus vor sich gehabt hat.

Nach meinen Erfahrungen muß ich Heim unbedingt beipflichten, wenn er sagt, daß man einen Streptococcus lacticus mit nahezu vollkommener Sicherheit durch Ueberimpfung des fraglichen Stammes auf mit etwa 7proz. Lackmustinktur versetzter Milch erkennt. Obwohl die Lackmusmilch schon lange in der Bakteriologie verwendet wird, ist sie selten bei Züchtung von Milchsäurestreptokokken in Gebrauch genommen worden, und wenn es geschah, so ist das Verhalten dieser Streptokokken übersehen worden. So hat Puppel (10) bei seinen Untersuchungen über die Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl, zu welchen er auch Lackmusmilch verwendete, nicht die Milch von 12 eutergesunden Kühen vor sich gehabt, sondern es ergibt sich schon aus seinen Leukozytenwerten nach Tromsdorff, daß sich euterkranke Tiere darunter befanden; einige Zentrifugate hatten das für Mastitis streptococcica sprechende Aussehen. Von 17 Stämmen, die aus Milch von 11 Kühen erhalten worden waren, hatten 4 nach spätestens 4 Tagen Lackmusmilch unter Rötung geronnen gemacht, 9 Stämme brachten sie zwar nur zur Hälfte zur Rötung mit teilweiser Gerinnung, bei 2 Stämmen sah er nur Rötung, und 2 Stämme erzeugten keine nachweisbare Säuremenge. Aber gerade die 4 Stämme, welche die Lackmusmilch ganz gerötet und geronnen gemacht hatten, stammen von Kühen, deren Milch Veränderungen für Mastitis streptococcica zeigte. Bei den übrigen Stämmen ergaben die aus den Lackmusmilchproben angefertigten Ausstriche ein so variables Verhalten, daß man annehmen muß, daß die zur Prüfung benutzten Kulturen keine Reinkulturen waren, oder daß die Lackmusmilch nicht steril war.

Auch bei dem aus dem Stuhle von 60 normalen und kranken Säuglingen gezüchteten Streptokokken fällt auf, daß mehr als ein Drittel der Stämme die Lackmusmilch in charakteristischer Weise, für Streptococcus lacticus sprechend, verändert haben.

Aus dem Angeführten geht hervor, daß auch Puppel bei seinen Untersuchungen die von Heim als für den Streptococcus lacticus

typischen Veränderungen auf Lackmusmilch gesehen hat, und daß auch nach meinen Untersuchungen für den Streptococcus mastitidis sprechende gefundene Veränderungen mit dem Verhalten der Stämme Puppels aus Milch einiger gesunder Kühe, die aber an einer chronischen Streptokokkenmastitis erkrankt gewesen sein müssen, übereinstimmen. (Die Milch von galtkranken Kühen zeigt oft makroskopisch monatelang ein normales Aussehen.)

Da es den Rahmen meiner Arbeit überschritten hätte, habe ich Tierversuche mit krankheitserregenden Kälber- und Schweinestreptokokken von Verhalten des Laktikus vorderhand nicht durchgeführt. Ich glaube nicht, daß es sich bei den vorgelegenen Stämmen, die in morphologischer Beziehung für Streptococcus lanceolatus-Stämme (Pneumokokken Fränkel-Weichselbaum) gehalten werden könnten, um solche gehandelt habe, denn nach Heim zeigten diese Bakterien auf Lackmusmilch folgendes Verhalten. Die Milch wird durch den Streptococcus lanceolatus nie weiß, sondern verschieden stark rot bei verspätet einsetzender oder ganz ausbleibender Gerinnung, also ein Verhalten, welches mit dem des Streptococcus lacticus auf Lackmusmilch nicht im entferntesten übereinstimmt. Es scheint mithin der Streptococcus lacticus bei Erkrankungen der Jungtiere eine Rolle zu spielen, die in eine Parallele mit der Ansicht Kruses gestellt werden kann, der sagt, daß der Streptococcus lanceolatus nichts anderes sei als ein Milchsäurekokkus mit großer Ansteckungskraft, mit dem Unterschiede, daß die biologischen Eigenschaften des Laktikus bei den Tierkrankheiten sich noch nicht in dem gleichen Maße verändert haben, als beim Pneumokokkus des Menschen. Dies mag auch damit zusammenhängen, daß der Laktikus als harmloser Saprophyt sich längere Zeit im menschlichen Organismus aufhält, während dieser Zeit verschiedene biologische Eigenschaften annimmt, und gelegentlich — durch gewisse Umstände begünstigt, z. B. Erkältung — zur krankheitserzeugenden Ursache wird.

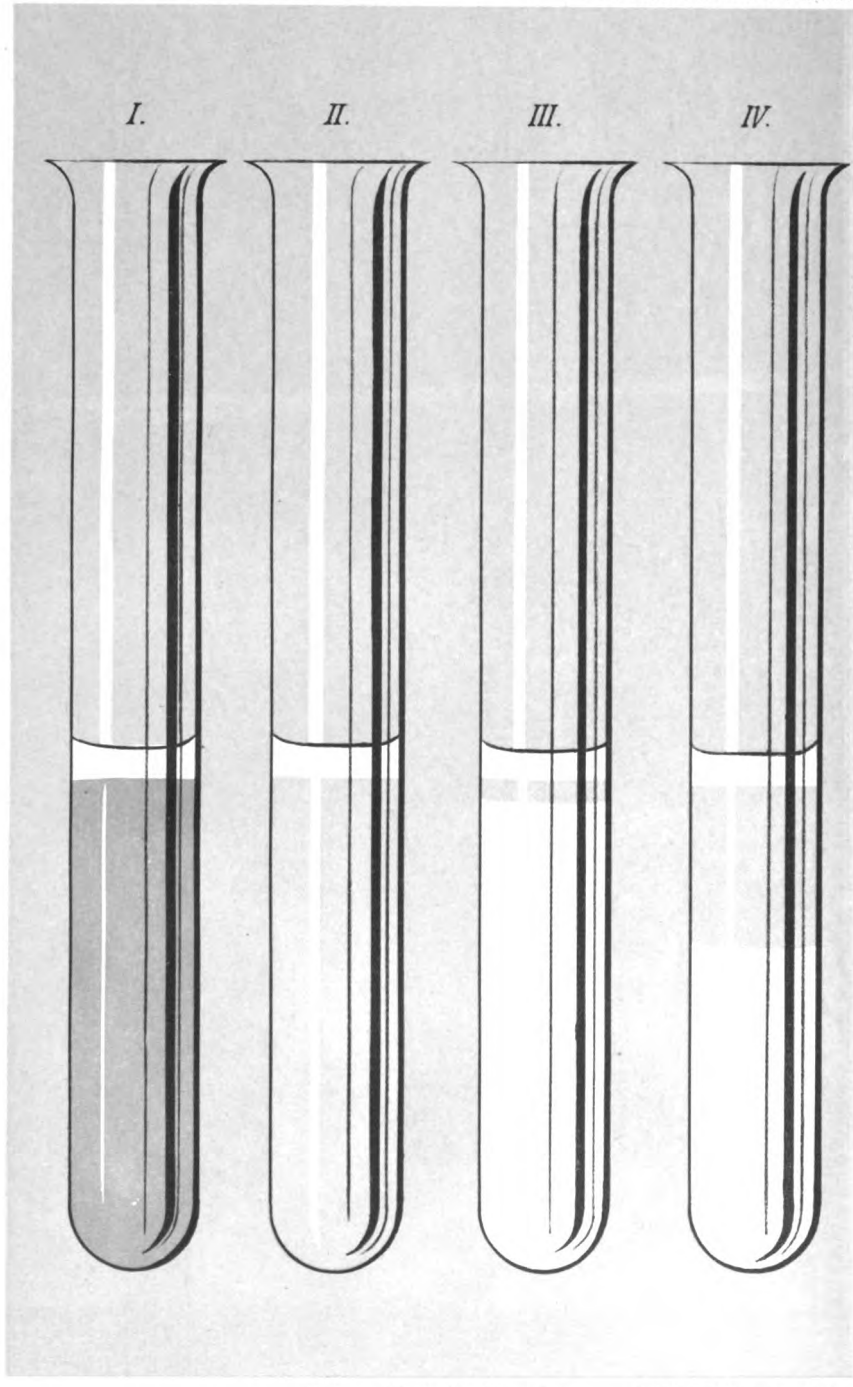
Ich halte die Lackmusmilch für einen besonders geeigneten Elektivnährboden zur Streptokokkendifferenzierung und auch für das Studium der biologischen Eigenschaften anderer Bakterienarten, denn das Unvermögen vieler Bakterien, darunter besonders der Sporenbildner, die Milch zur Gerinnung zu bringen oder nicht, das Kasein aufzulösen oder nicht, den Lackmusfarbstoff zu verändern, kann sicher und leicht erkannt werden. Mit großem Vorteile verwende ich sie auch bei der Differenzierung der Bakterien aus der Typhus-Coli-Gruppe.

Da es sehr naheliegend ist, daß die azidophilen Bakterien der Milch auf der Lackmusmilch ebenfalls Veränderungen erzeugen, habe ich solche Stämme untersucht. Doch würde es hier zu weit führen, wenn ich auf die Ergebnisse dieser Versuche an dieser Stelle eingehen wollte. Erwähnen möchte ich nur, daß der Bacillus bulgaricus bei meinen Prüfungen das gleiche Verhalten zeigte, wie es Schlirf (18) angibt; Gerinnung und Rötung der Lackmusmilch nach 24—28 Std. und in der Folgezeit Aufhellung von unten bis in die Mitte der Eprouvette (gelblich-weiß). Der weiße oder gelblich-weiß gewordene Teil wird in einigen weiteren Tagen wieder rot.

Schlußsätze.

1) Der Streptococcus lacticus zeigt auf 7proz. Lackmusmilch ein typisches Verhalten. Sie wird stets in den ersten 24 Std. bei

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



Verlag von **Gustav Fischer** in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

gleichzeitiger Gerinnung weiß. Die Rötung setzt unter der unveränderten Rahmschicht ein und schreitet verschieden schnell bodenwärts. — 2) Der Streptococcus mastitidis bringt die Lackmusmilch meist innerhalb 24 Std. unter gleichzeitiger Rötung zur Gerinnung. — 3) Der Streptococcus lacticus dürfte durch Virulenzsteigerung auch Mastitiden bei den Milchtieren hervorzurufen in der Lage sein, wobei er in diesen Fällen nach seinem Verhalten auf Lackmusmilch eine Zwischenstufe zwischen dem Laktikus und Streptococcus mastitidis zeigt. — 4) Die Kälberkrankheiten hervorrufenden und ein Teil der bei Ferkelerkrankungen gefundenen Streptokokken verhalten sich wie ein echter Laktikus. — 5) Die Lackmusmilch dürfte auch Nährboden darstellen, der besonders in der amtlichen Milchkontrolle zur Erkennung des Streptococcus mastitidis in Zweifelsfällen mit Vorteil herangezogen zu werden verdient. Sie sollte im allgemeinen in größerem Umfange in der Bakteriologie verwendet werden, als es tatsächlich geschieht.

Schrifttum.

1) Ernst, Ueber die Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 20 u. 21.) — 2) Gröning, G., Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens. (Diss. Bern 1901.) — 3) Stähli, A., Biologie des Streptococcus mastitidis cont. (Diss. Zürich 1904.) — 4) Gminder, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1912. — 5) Sven-Wall, Euterentzündungen der Kuh. Stuttgart 1908. — 6) Müller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 27. S. 468. — 7) Jones zitiert nach 9. — 8) Mejlbo, E., Typeinddeling of Mastitis-Streptokokken fra Kvaeg after deres Forgaeringshold. (Meddelel serfra den Kgl. Veterinaer of Landbohjskoles Serumlaboratorium LXXXVII. 1924.) — 9) Hammerschmidt, J., Gegenwärtiger Stand der Forschung und der Bakteriologie der Milch. (Centralbl. f. d. ges. Hyg. Bd. 5. H. 5.) — 10) Puppel, R., Ueber Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70.) — 11) Heim, L., Milchsäure- und andere Streptokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. S. 104.) — 12) Kruse, Einführung in die Bakteriologie. Berlin-Leipzig 1920. — 13) Kitt, Bakterienkunde u. path. Mikroskopie. Wien 1903. — 14) Hašak, J., Beitrag zur Biologie des Streptokokkus der Colpitis granulosa infect. (Tierärztl. Zentralbl. Jahrg. 34. 1911.) — 15) Burri, Landwirtschaftliches Jahrbuch f. d. Schweiz. Bd. 25. 1912. — 16) Rudolf, J., Beitrag zur Morphologie und Biologie des Galtstreptokokkus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. — 17) Mejlbo, E., Maanedsskr. f. Dyrl. Bd. 37. H. 7. — 18) Schlirf, K., Zur Kenntnis der azidophilen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926.)

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Das Röhrchen zeigt das Aussehen des unveränderten Nährbodens.

Fig. 2. Ein Lackmusmilchröhrchen, beimpft mit Strep. mastitidis nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt.

Fig. 3. Ein Lackmusmilchröhrchen, beimpft mit Strep. lacticus nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt.

Fig. 4. Ein Lackmusmilchtröpfchen, beimpft mit Strep. lacticus nach 3tägigem Brutschrankaufenthalt.

Nachdruck verboten.

Ueber Morphologie, Biologie und pathologische Bedeutung des sog. „Enterokokkus".

[Aus dem Institut für Bakteriologie der Universität in Budapest (Dir.: Prof. Dr. Hugo v. Preisz).]

Von Dr. **Stefan Went**, Assistent.

Als im Jahre 1866 durch Escherich im Stuhl von Säuglingen ein ovaler Diplostreptokokkus endeckt, und unter dem Namen „Micrococcus ovalis" beschrieben wurde — verursachte diese Mitteilung kein besonderes Aufsehen auf dem Gebiete der damaligen bakteriologischen Forschungen; man nahm einfach zur Kenntnis, daß zu der Zahl der in der Botanik schon bekannt gewesenen Spaltpilze eine neue Art hinzugekommen war. Es vergingen beinahe 25 Jahre, bis dieses Mikrob die Aufmerksamkeit der Bakteriologen auf sich zu lenken vermochte. Seine Eigenschaften untersuchten in 1. Linie englische und französische Forscher und auch der Name „Enterococcus" — syn. Streptococcus faecalis, Darmstreptokokkus — ist von ihnen in die bakteriologische Nomenklatur eingeführt worden. Die Beobachtungen, welche diese Autoren mitteilten, wiesen darauf hin, daß dieses Mikrob in der Natur sehr verbreitet ist; dementsprechend wurde es immer wichtiger, seine morphologischen und biologischen Eigenschaften, sowie seine pathologische Bedeutung genau zu bestimmen.

Die Enterokokkus-Frage ist noch keinesfalls erledigt, obwohl sie in der Literatur der letzten 10—15 Jahre wieder aufgerollt wurde. Von vielen Autoren wird einem Mikroben, welches seinen morphologischen und biologischen Eigenschaften nach dem Enterekokkus entspricht, beim Entstehen einiger pathologischer Vorgänge eine wichtige Rolle zugeschrieben. Ich selbst begegnete dem Enterekokkus zum 1. Male als ich die Bakterienflora des menschlichen Darmtraktes analysierte. Nachher hatte ich Gelegenheit, diese Untersuchungen auf die verschiedensten Höhlen des menschlichen Organismus — sowie auf die Mundhöhle und auf den urogenitalen Trakt — auszudehnen und die Anwesenheit des Enterokokkus zumeist auch in diesen festzustellen. Aus den verschiedensten Produkten des menschlichen Organismus, beinahe 300 Enterokokken-Stämme erhaltend, konnte ich nun bezüglich der Morphologie, Biologie und pathologischen Rolle dieses Mikrobs einige Beobachtungen machen; in dieser Mitteilung sollen letztere zusammengefaßt werden.

I. Das mikroskopische und kulturelle Verhalten des Enterokokkus.

Der Enterokokkus ist ein grampositiver, ovaler Diplostreptokokkus, der auf den gewöhnlichen Nährböden kultiviert, einen ausgesprochenen Polymorphismus zeigt, keine Kapsel bildet und unbeweglich ist. Auf Agar-Agar wächst er in nadelstichgroßen durchsichtigen Kolonien, vergärt die verschiedenen Zuckerarten nicht, erzeugt kein Indol, bringt die Milch nicht zur Gerinnung, ruft aber in derselben eine Säuregärung

hervor, verflüssigt die Gelatine erst nach längerer Zeit, hämolysiert nicht, ist galleunlöslich und optochin-unempfindlich.

Es können also mit Hilfe der gewöhnlichen Mittel, die im allgemeinen zur Identifizierung einer Bakterienart benützt sind — zahlreiche charakteristische Eigenschaften des Enterokokkus festgestellt werden. Von dem Streptococcus pyogenes kann man dieses Mikrob ohne weiteres unterscheiden: bei dem ersteren sind die Bakterienindividuen ausgesprochen rund, wogegen die einzelnen Enterokokken seitlich abgeplattet sind (Ovalformen). Desto größer ist aber die morphologische Aehnlichkeit zwischen Enterococcus und Pneumococcus; der Uebergang zwischen der Lanzetten-Form des letzteren und der ovoiden Form der ersteren könnte manchmal zu Verwechslungen Anlaß geben. Während jedoch der Enterokokkus überhaupt keine kapselbildende Fähigkeit besitzt, ist dieselbe für den Pneumokokkus — wenigstens im tierischen Organismus — wohl charakteristisch. Auch abgesehen von der Tierpathogenität können die 2 Bakterienarten scharf unterschieden werden, indem der Enterokokkus — im Gegensatz zum Pneumokokkus — galleunlöslich und optochin-unempfindlich ist.

Der Enterokokkus scheint sonach ohne weiteres diagnostiziert werden zu können; es mangelt aber nicht an widersprechenden Angaben. Meyer (1) behauptet, der Enterokokkus hämolysiere manchmal und vergäre Mannit unter Säurebildung, weiters, daß er auf den gewöhnlichen festen Nährböden — unmittelbar aus dem Untersuchungsmaterial verimpft — nur schwierig kultiviert werden könne. (Deshalb hält er es für notwendig, aus letzterem zuerst Bouillon zu beimpfen; von der Bouillonkultur können dann die Enterokokken ohne weiteres auf den gewöhnlichen festen Nährböden fortgezüchtet werden.) Dagegen hebt Schmitz (3) die auffallende Anspruchslosigkeit der Enterokokken gegenüber den verschiedensten Nährböden hervor, sowie die Eigenschaft, daß sie keine Zuckerarten zu zersetzen imstande sind. Nach Donaldson (3) bilden die Enterokokken auf Agar-Agar Kapseln, wogegen dies von den meisten Autoren verneint wird.

Im Lichte meiner eigenen Untersuchungen gestalten sich diese, einander widersprechenden Beobachtungen folgenderweise:

Hämolyse: Das Verhalten von 82 Enterokokkenstämmen wurde auf Menschen- und Hammelblutagar untersucht. Auf Menschenblutagar hatte ich sogar nach 10—12tägiger Kultur keine Hämolyse beobachtet. Auf Hammelblutagarplatten konnte ich in 17 Fällen nach 8—12 Tagen um die einzelnen Kolonien enge, als Hämolyse imponierende Veränderungen wahrnehmen. Diese Eigenschaften weisen jedoch die meisten Bakterienarten auf, ohne daß man deswegen ihnen eine hämolysierende Eigenschaft zuschreiben würde. Wahrscheinlich vermindert sich die Resistenz der im Nährboden sich befindenden roten Blutkörperchen im Laufe von 8—12 Tagen in der Weise, daß ihre Auflösung auch durch die Einwirkung solcher Stoffwechselprodukte bakteriellen Ursprungs zustande kommt, die die normalen Erythrozyten nicht beeinflussen. Eine bakterielle Hämolyse also, welche erst nach 8—12 Tagen eintritt, hat gewiß eine andere Bedeutung. Beachtet man — zwecks Gleichmäßigkeit in der Beurteilung der Verhältnisse — die gewiß nicht unrichtige Regel, daß eine hämolysierende Eigenschaft nur solchen Bakterienarten zugeschrieben werde, welche die roten Blutkörperchen mindestens binnen 3 Tagen auflösen, so kann man ohne

weiteres behaupten, daß der Enterokokkus keine hämolysierende Eigenschaft besitzt.

Was nun die Zersetzung von Mannit und anderen Zuckerarten anbelangt (Milch- und Traubenzucker), so habe ich diese Frage mittels 40 verschiedener Enterokokken-Stämme untersucht, fand aber keinen, der Mannit, Milchzucker oder Traubenzucker zersetzt hätte. Meine Versuchsergebnisse stehen sonach mit denen von Schmitz, laut welcher der Enterokokkus Kohlenhydrate nicht zersetzt, in vollem Einklang.

Auch kann ich die Angabe Meyers nicht bestätigen, daß die Enterokokken auf den gewöhnlichen festen Nährböden — unmittelbar aus dem Untersuchungsmaterial heraus — nur schwierig züchtbar wären. Ich habe das Untersuchungsmaterial immer auf gewöhnlichen oder auf Endo-Agar geimpft, und auf diese Weise konnte ich den Enterokokkus ohne irgendwelche Schwierigkeiten züchten. Die Beimpfung der Platten soll natürlich derart geschehen, daß die Kolonien der im Untersuchungsmaterial meistens im Uebergewicht vorhandenen anderen Bakterienarten sich isoliert entwickeln. Sollten sich die Kolonien des Enterokokkus in solchen Kulturen in den ersten 24 Std. nicht bemerkbar machen, so gelangen sie im Laufe der weiteren 1—2 Tage zu einer manifesten Entwicklung, und zwar sowohl auf Agar-Agar, wie auch auf Endoschen Platten. Uebrigens habe ich Meyers Vorschlag folgend aus 22 Untersuchungsmaterialien, aus denen die Züchtung der Enterokokken auf den erwähnten 2 Nährböden nicht gelungen war, in Bouillon verimpft; die auf gewöhnlichem und Endo-Agar sich negativ verhaltenden Fälle blieben aber auch bei Anwendung dieser Methode negativ. Es kann also behauptet werden, daß der Enterokokkus auf den gewöhnlichen festen Nährböden ohne Schwierigkeiten gezüchtet werden kann. Die Anspruchslosigkeit gegenüber den verschiedenen Nährböden ist für dieses Mikrob direkt charakteristisch.

Es sei endlich die Angabe von Donaldson erwähnt, wonach der Enterokokkus auf Agarplatten Kapseln bilden soll. Ich habe in dieser Beziehung fast alle meine Enterokokken-Stämme genau untersucht, ohne Kapseln gesehen zu haben. Die Methode, welcher ich mich dabei bediente, bestand darin, daß in Tusche ausgestrichene Bakterien nach Trocknung und Fixierung mittels einer Alkohol-Fuchsin-Lösung gefärbt wurden. Ich untersuchte auch, ob die Tierpassage keinen Einfluß auf die Kapselbildung hat. In drei Fällen wurden in Bauchhöhle von Ratten die Bakterien von je 10 Schrägagarkulturen (in je 3 ccm phys. NaCl. Lösung suspendiert) eingespritzt; nach 6 Std.[1]) wurde das Peritonealexsudat unter Mikroskop untersucht und auf Agar verimpft, aber auch so zeigten sich keine Kapseln. Wenn Donaldson um den von ihm herausgezüchteten Bakterien Kapseln gesehen hat — und das soll keineswegs bezweifelt werden — so waren diese Mikroben wohl keine Enterokokken.

1) Für Ratten ist der Enterokokkus — auch intraperitoneal eingeführt — nicht pathogen. Die Untersuchung der Bakterien 6 Std. nach der Einspritzung ist deshalb notwendig, weil Enterokokken aus dem Peritoneum des Versuchstieres baldigst verschwinden.

II. Das Vorkommen des Enterokokkus im menschlichen Organismus.

Der Enterokokkus kommt bei Tier und Mensch in den verschiedensten Körperhöhlen vor; er ist beim Menschen ständiger Bewohner des Dickdarms, wird aber auch in Mund- und Rachenhöhle, sowie in den Harn- und Gallenwegen gefunden. Verschiedene Autoren fanden ihn in Pleural- und Peritonealexsudat (Schmitz (2, 4), perityphlitischen, periproktitischen, subphrenischen und Douglas-Abszessen [Meyer (1) im Blute (Thiercelin) (5) und in Kriegswunden (Tissier) (6)].

Sein typischer Aufenthaltsort ist zweifellos der Dickdarm. Auch Escherich hat dieses, bis dahin noch unerkannt gewesene Mikrob zuerst im Stuhl gefunden; es wurde in großer Menge gefunden bei Enteritiden, Colitiden, Darmokklusionen, bei Typhus und Dysenterie; Schmitz konnte es aus normalem menschlichen Stuhl niemals züchten.

Ich prüfte auf Enterokokken hin 127 Stühle; diese Fälle waren:

Kolitis	88	Fälle[1])
Typhus	11	„
Dysenterie	9	„
Normalstuhl[2])	20	„

Bei diesen Untersuchungen benütze ich gewöhnlichen und Endo-Agar. Enterokokken waren nachgewiesen:

Von 88	Kolitisfällen	80mal
„ 11	Typhusfällen	10 „
„ 9	Dysenteriefällen	7 „
„ 20	Normalstühlen	18 „

Quantitativ zeigten natürlich die einzelnen Fälle große Verschiedenheiten; bei schwereren und länger dauernden Formen von Colitis, sowie bei chronischer Dysenterie war die ganze Oberfläche des Endo-Agars — abgesehen von 6—10 Kolonien des Coli-Bazillus — mit solchen des Enterokokkus bedeckt. Bei akuter Dysenterie und Typhus ist die Zahl der im Stuhle befindlichen Enterokokken erheblich kleiner; dasselbe kann in manchen Normal-Stühlen beobachtet werden, doch sind in den letzteren die Enterokokken meistens erst in 2—3tägigen Kulturen sporadisch nachweisbar.

Bezüglich der quantitativen Verhältnisse verteilten sich unsere Fälle folgendermaßen:

I. Von 88 Colitisfällen wurden
in 25 Fällen mehr Enterokokken, als Coli-Bazillen,
in 51 Fällen Enterokokken und Coli-Bazillen in gleicher Menge,
in 4 Fällen wenig Enterokokken und viel Coli-Bazillen gefunden;
in 8 Fällen waren Enterokokken nicht nachweisbar.

II. Von 11 Typhusfällen wurden
in 4 Fällen Enterokokken und Coli-Bazillen in gleicher Menge,
in 6 Fällen wenig Enterokokken und viel Coli-Bazillen gefunden;
in 1 Falle waren Enterokokken nicht nachweisbar.

1) Zu Anfang dieser Untersuchungen konnte ich den Enterokokkus nur ziemlich selten nachweisen (in ca. 50 Proz. der untersuchten Fälle); die Ursache dessen, daß dasselbe später viel öfter gelungen war, liegt offenbar darin, daß ich die Kulturen anfangs schon nach 24 Std., später dagegen erst nach 2—3 Tagen untersuchte.

2) Diese stammten von Individuen, in deren Anamnese keine Darmerkrankungen erwähnt sind.

III. Von 8 Dysenteriefällen wurden
in 3 Fällen mehr Enterokokken, als Coli-Bazillen,
in 3 Fällen Enterokokken und Coli-Bazillen in gleicher Menge,
in 1 Falle wenig Enterokokken und viel Coli-Bazillen gefunden;
in 1 Falle waren Enterokokken nicht nachweisbar.
IV. In 20 Normalstühlen wurden
in 2 Fällen Enterokokken und Coli-Bazillen in gleicher Menge,
in 16 Fällen wenig Enterokokken und viel Coli-Bazillen gefunden;
in 2 Fällen waren Enterokokken nicht nachweisbar.

Aus diesen Untersuchungen kann geschlossen werden, einerseits, daß der Enterokokkus ein ständiger Bewoher des normalen Dickdarmtractes ist, und daß er sich ferner bei Erkrankungen verschiedensten Ursprungs stark vermehren kann; länger andauernde Darmerkrankungen haben eine größere Vermehrung des Enterokokkus zur Folge, als akute Vorgänge.

Ueber Enterokokkus als Bewohner der Mund- und Rachenhöhle berichtet Schmitz (2, 4). Ich selbst versuchte in 92 Fällen die Züchtung des Enterokokkus aus der Mund- und Rachenhöhle. Die Untersuchungen wurden parallel durchgeführt, indem ich stets einerseits die Bakterienflora des Mundes, bzw. im Munde vorhandenen pathologischen Produktes, andereseits die des Rachens, bzw. der Tonsillen untersuchte. Die Kulturen waren auf Schrägagar hergestellt.

Die untersuchten Fälle waren die folgenden:

Alveolare pyorrhoea	51	Fälle
Stomatitis	9	„
Zahnkrusten	14	„
Tonsillitis	8	„
Gesunde Mundhöhle und Tonsillen	10	„

Bei Pyorrhöen wurde das eiterige Exsudat der Alveolen, bei Stomatitiden, Zahnkrusten, Tonsillitiden und in Fällen von gesunden Mundhöhlen das von Gingivalrand genommene Scharricht untersucht.

Von den 51 Pyorrhöa-Fällen konnte ich sowohl aus dem Alveolareiter, als auch von der Tonsillenoberfläche den Enterokokkus in 42 Fällen nachweisen; darunter wurde er aus dem Alveolareiter in 11 Fällen in Reinkultur erhalten, in der Tonsillen-Flora dagegen waren auch andere Mundbakterien vorhanden. (Staphylokokkus, Micrococcus catarrhalis, Sarcinaetz.) Von 9 Stomatitis-Fällen wurden Enterokokken in 5 Fällen, bei Zahnkrusten von 14 Fällen in 14 Fällen, von 8 Tonsillitis-Fällen in 3 Fällen und aus gesunden Mundhöhlen von 10 Fällen in 7 Fällen gezüchtet.

Die quantitativen Verhältnisse waren auch hier recht verschiedene. Das Mikrob wurde in größter Menge im Alveolareiter bei Pyorrhöa gefunden, spärlich bei Tonsillitiden, und in gesunden Mundhöhlen. Der Fall, daß neben positivem Tonsillenbefund diese Bakterien in der Mundhöhle fehlten, oder umgekehrt, war niemals zu beobachten.

Man sieht also, daß — bezüglich der Anwesenheit der Enterokokken — zwischen Darm- und Mundhöhle eine weitgehende Analogie besteht; diese Mikroben sind ständige Bewohnern sowohl des ersteren, wie auch der letzteren und können bei den verschiedenen Krankheitsprozessen zu einer extremen Vermehrung gelangen.

An dieser Stelle sei noch eine Frage berührt; Meyer bemerkt nämlich, daß die in der Mundhöhle und im Rachen befindlichen Diplokokken keine Enterokokken wären, da letztere die Raffinose vergären, wogegen Enterokokken diese Eigenschaften nicht besitzen.

Meinerseits habe ich das Verhalten aller aus der Mundhöhle gezüchteten Enterokokkenstämme gegen Raffinose untersucht, und konnte feststellen, daß keine von ihnen die genannte Zuckerart vergor. Das Verhalten gegen Raffinose anderer, in der Mundhöhle befindlicher Diplokokken habe ich nicht untersucht.

Die Zahl der Autoren, die den Enterokokkus im Urin nachweisen konnten, ist so groß, daß von ihrer Aufzählung an dieser Stelle abgesehen werden muß. Ich selbst habe 211 Harnuntersuchungen auf Enterokokken durchgeführt; 140 davon stammten von Cystits-Pyelitis- bzw. Pyelonephritiskranken, 41 von Urethritis gonorrhoica und 30 von Individuen, bei denen im Urogenitaltrakt überhaupt keine Infektionen vorangegangen waren.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren folgende:

Von 140 Cystitis-Pyelitis- und Pyelonephritisfällen wurden in 86 Fällen Enterokokken,

von 41 Fällen von Urethritis gonorrhoica chronica wurden in 9 Fällen Enterokokken herausgezüchtet. Im Harne von 30 Gesunden wurden Enterokokken nicht gefunden.

Bei Infektionen der höheren Harnwege (Blase, Pyelum) fand ich neben Enterokokken B. coli, B. pyocyaneus, B. faecalis alkaligenes, Bact. lactis aërogenes, Proteus, Pneumobazillus, Gonokokkus und Staphylokokkus; bei Fällen von Urethritis chronica Gonokokken, Staphylokokken und andere grampositive Kokkenarten. Ich konnte den Enterokokkus in Reinkultur aus den Harnwegen niemals erhalten. Die Angaben von Meyer (1) und Schmitz (2) — wonach Enterokokken allein und ohne irgendwelche Begleitbakterien im Harne vorkommen, werden somit durch meine Untersuchungen nicht bestätigt.

Andere physiologische und pathologische Sekrete (Duodenalsaft, Exsudate und Abszesse der Pleura und des Peritoneums) hatte ich auf Enterokokken nicht untersucht; diesbezüglich sei auf die entsprechenden Mitteilungen anderer Autoren hingewiesen.

III. Pathogenität.

Ist der Enterokokkus imstande eine pathogene Wirkung auszuüben? — Die Wichtigkeit dieser Frage wird sofort klar, wenn man die mannigfaltige Verbreitung dieses Mikroben im menschlichen Organismus bedenkt. Im Vorangehenden wurde gezeigt, daß Enterokokken in gesunden Darm- und Mundhöhlen anwesend sind und im Laufe der verschiedensten — manchmal völlig bedeutungslosen — pathologischen Prozessen sich stark vermehren können. Es frägt sich nun, ob und in welchem Maße die Enterokokken den Organismus zu bedrohen und welche Art pathologischer Prozesse sie hervorzurufen vermögen?

Meine, zur Klärung dieser Frage angestellten Untersuchungen bezogen sich auf jene Regionen des Organismus, die in dieser Hinsicht am wichtigsten sind, nämlich auf die Darm- und Mundhöhle, sowie auf den urogenitalen Trakt.

a) Die pathologische Bedeutung von Enterokokken im Darmtrakte.

Schon 1899 lenkte Escherich die Aufmerksamkeit darauf, daß Enterokokken bei Enteritiden von Säuglingen sich stark vermehren; auf Grund dieser Beobachtung hielt er diese Mikroben für die Erreger

der genannten Prozesse (7). Im neuen Handbuch der Medizin von Roger, Widal und Teissier (8) ist der Enterokokkus als Erreger der mucomembranösen Darmerkrankungen beschrieben. Im Laufe einer, 12 Fälle betreffenden Dysenterieepidemie fand Peckham (9) in jedem Falle Enterokokken im Stuhle und nahm an, daß der Enterokokkus die Ursache der genannten Epidemie gewesen wäre. Außer den genannten Autoren halten auch Schmitz (2) und Cayrel (10) den Enterokokkus für einen krankheitserregenden Parasiten des Darmtraktes.

Beachtet man die Momente, zufolge welcher einige Autoren den Enterokokken in der Pathologie des Darm- namentlich des Dickdarmtraktes eine wichtige Rolle zuschreiben, so wird es auffallen, daß sich dieselben in der einzigen Beobachtung erschöpfen, wonach der Enterokokkus bei manchen Krankheitsprozessen des Darmes im Stuhle regelmäßig gefunden worden ist. Nun kann mit Recht gefragt werden, ob eine solche Beobachtung allein uns berechtigt, so weitgehende Schlüsse zu ziehen.

Gestützt auf die Ergebnisse meiner Untersuchungen, welche im Laufe der letzten 4 Jahre bezüglich der Pathogenese und Therapie der chronischen Colitiden durchgeführt wurden, fühle ich mich berechtigt, obige Frage zu beantworten.

Anfangs, als ich die Fäces einiger Colitiskranken analysierte, war die Regelmäßigkeit, mit welcher die Enterokokken in solchen Stühlen, oft sehr vermehrt, erschienen — auch mir aufgefallen. Abgesehen von den Literaturangaben, legte mir diese unmittelbare Beobachtung den Gedanken nahe, den Enterokokken hier eine krankheitserregende Rolle zuschreiben zu können; demzufolge hatte ich versucht, die Colitiker mittels einer Enterokokkenautovakzine zu behandeln. Bei 2 so behandelten Fällen hat sich jedoch keine Besserung gezeigt, wogegen die mittels Coli-Autovakzine behandelten Kranken völlig und rezidivenlos geheilt waren. Daraus erschien die Annahme, daß die Enterokokken nicht die Erreger der Krankheit seien, als wahrscheinlich. Diese Ansicht wurde durch Tier- und Menschenversuche völlig bestätigt. In die Schwanzvene von Ratten und in die Bauchhöhle von Meerschweinchen wurden die Bakterien von je einer Schrägagarkultur eingespritzt, ohne daß sich bei den Tieren pathologische Symptome gezeigt hätten. Den Menschenversuch machte ich an mir selbst. Eines Morgens, nach einem mäßigen Abendessen trank ich auf nüchternen Magen eine Bakterienaufschwemmung von drei 24stünd. Schrägagarkulturen in phys. NaCl.-Lösung suspendiert, ohne daß dadurch die Funktion meines Darmtraktes geschädigt worden wäre. Dieser Selbstversuch wurde noch 3mal durchgeführt, und zwar mit größeren Bakterienmengen (5—10 Schrägagarkulturen), doch waren die Versuchsergebnisse stets dieselben. Da nun auch die in den Stühlen von Colitiskranken befindlichen Coli-Bazillen vom Normaltypus keine bemerkenswerte Abweichung bekundeten, so hatte ich die ausgezeichnete Wirkung von Coli-Autovakzinen auf solche Krankheitsprozesse vor Augen haltend, die Pathogenese der Colitiden folgenderweise gedeutet: „Es ist also zu behaupten, daß in der Aetiologie der Colitis mucosa nicht irgendeine pathogene Bakterienart, und nicht das Pathogenwerden schon vorhanden gewesener Saprophyten die wichtigste Rolle spielt, sondern eine abnorme Eigenschaft der Darmwand, die die Invasion von Darmsaprophyten ermöglicht.

Daraus aber folgt, daß bei der Therapie von der Vernichtung einer, oder der anderen Bakterienart keine Rede sein kann, wohl aber von der Wiederherstellung jener Kräfte der Darmwand, welche durch gewisse indirekt wirkende Momente geschwächt wurden, deren Vorhandensein aber unbedingt notwendig ist, um die normalen Verhältnisse aufrecht zu erhalten. (Unter diesen indirekt wirkenden ätiologischen Momenten verstand ich die Koloptose, Darmgeschwülste, Strikturen, Innervationsstörungen, langdauernde und sich öfters wiederholende Diätfehler, akute Infektionen der Darmwand.) Nachdem sich in allen Fällen die normale Funktion des Darmes nach Einführung der Coli-Impfstoffe einstellte, so darf wohl angenommen werden, daß das Wesen des Heilvorganges in einer Stärkung der Darmwand zu suchen ist; es mag sich um eine Kräftigung, Immunisierung des Darmes gegen die Coli-Bazillen handeln, die ihm aber auch anderen Darmbakterien, sowie nicht parasitären Schädlichkeiten gegenüber zugutekommen dürfte" (11).

Welche Rolle kann nun den Enterokokken bei Colitiden zugeschrieben werden? — Einfach die, daß sich bei solchen Vorgängen diese, im Darmlumen auch unter normalen Verhältnissen vorhandenen Mikroben stark vermehren, ohne am Hervorrufen der Symptome der Krankheit teilzunehmen. Der Umstand, daß die Enterokokken sich auch bei Typhus und Dysenterie — welche Infektionen einen ganz spezifischen Erreger haben — vermehren, weist darauf hin, daß sämtliche Einwirkungen, die Obstipation, oder Diarrhöe hervorrufend, den normalen Verkehr des Darminhaltes zu stören imstande sind, die Vermehrung von Enterokokken begünstigen. Diese Anschauung wird auch durch die Beobachtungen von Rocchi (12) gestützt, wonach die Enterokokken auch bei Darmokklusionen — also bei Vorgängen, wo die Stagnierung auf rein mechanischen Momenten beruht — sich stark vermehren. Im Laufe meiner eigenen Untersuchungen habe ich dieselbe Erscheinung auch bei Koloptose, bei Strikturen, und bei Geschwülsten der Bauchhöhle beobachtet[1]), wodurch die Ansicht, daß die Vermehrung dieser Mikroben durch die verschiedensten Momente zustandekommt, wieder gestützt wird.

Es sollen nun noch 2 wichtige Umstände erwähnt werden; der eine ist, daß die Intensität der Vermehrung der Enterokokken mit der Dauer der Darmstörungen in engem Zusammenhang steht. Bei Krankheitsprozessen, von chronischem, jahrelang dauerndem Verlauf, vermehren sich die Enterokokken viel stärker, als bei akuten Vorgängen (Typhus, Dysenterie), ohne daß irgendein Zusammenhang zwischen dem Grade dieser Vermehrung und der Intensität der Symptome nachweisbar wäre. Ich beobachtete Colitiden von der Dauer von 10—12 Jahren, wo sich die Kranken in völlig guter Kondition befanden und ihrer Arbeit ungestört nachgehend, sich nur über unregelmäßige Stuhlentleerungen und auf Diätfehler vorkommende colikartige Schmerzen beschwerten; doch waren die Enterokokken in diesen Stühlen in viel größerer Menge, als Coli-Bazillen vorhanden. Dagegen beobachtete ich Vorgänge, die erst seit 6—8 Monaten dauerten, dagegen mit äußerst schweren Krankheitssymptomen einhergingen — Vorgänge, die ohne die spezifische Therapie binnen kürzester Zeit wahrscheinlich zum Tode geführt hätten

1) Zwischen solchen Vorgängen und den Obstipationsformen von Colitis eine scharfe Grenze zu ziehen, ist nicht immer leicht, nachdem die ersteren in der Aetiologie der letzteren eine, zwar mittelbare doch sehr wichtige Rolle spielen.

— wo aber die Enterokokken sich nur wenig vermehrt hatten. Es sei noch erwähnt, daß nach erfolgter Genesung die Enterokokken in den Stühlen noch in unveränderter Menge vorhanden sein können. In dieser Hinsicht treten die normalen Verhältnisse erst 3—6 Wochen nach der Behandlung ein. Dieses Verhalten weist daraufhin, daß die Entwicklung des pathologischen Vorganges der Vermehrung der Enterokokken vorangehen muß, sowie dem Verschwinden der letzteren das Zustandekommen der Heilung. Sind nun die Verhältnisse bei Colitiden derartige, so kann diese Ansicht umsomehr auch auf die Darmerkrankungen mit bekannter spezifischer Aetiologie (Typhus, Dysenterie) geltend gemacht werden.

Es sei noch ein interessanter Umstand erwähnt, welcher bei der ätiologischer Erforschung der Colitiden leicht irreführen kann. Bei der Mehrzahl der Colitiden bildet der Genuß von Milch und Milchspeisen einen schweren Diätfehler, insofern sich nachher sämtliche Symptome der Krankheit für eine mehr-weniger lange Dauer verschlimmern. Es ist bemerkenswert, daß diese Sensibilität der Kranken gegen Milch und Milchgerichte noch 3—6 Monate lang nach einer völlig erfolgreichen spezifischen Therapie fortdauern kann. Ich habe auf diese Eigentümlichkeit bereits früher hingewiesen (13) und bemerkt, daß Kranke, die nach einer völlig erfolgreichen Therapie sonst allerlei Speisen rezidiven- und symptomenlos ertragen, sich des Genusses von Milch sowie Milchspeisen 3—6 Monate lang enthalten sollen. Den Ursachen dieser eigenartigen Wirkung der Milch auf den Darmtrakt von Colitis-Reconvalescenten nachgehend, konnte ich feststellen, daß im Laufe der nach Milchgenuß aufgetretenen Colitis-Symptome die Enterokokken sich so stark vermehren, daß die Darmflora mehr-weniger dasselbe Bild darbot, wie vor der spezifischen Therapie.

Diese Beobachtung legt wieder den Gedanken nahe, daß zwischen der Vermehrung der Enterokokken und dem Auftreten der Krankheitssymptome doch ein ganz enger Zusammenhang bestehen müsse; diese Erscheinung kann jedoch auch völlig befriedigend erklärt werden, ohne den Enterokokken eine pathogene Rolle zuschreiben zu müssen. Meiner Auffassung nach vermehren sich die Darmstreptokokken in diesen Fällen nicht deshalb, weil der Kranke Milch genoß, und auch die Symptome verschlimmern sich nicht deshalb, weil die Darmstreptokokken vermehrt sind, sondern diese Vermehrung ist einfach Folge der abnormen Funktion des Darmtraktes, verursacht durch den Milchgenuß. Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht der Umstand, daß sich diese Wirkung der Milch auf den Darmtrakt von Colitis-Rekonvaleszenten einige Monate nach der Genesung nicht mehr äußert.

Endlich möchte ich auf den Befund von Peckham und Cayrel zurückkehren. Wie schon erwähnt, fand Peckham gelegentlich einer 12 Fälle umfassenden Dysenterie-Epidemie in sämtlichen Stühlen Enterokokken; Cayrel züchtete bei den, durch verdorbenes Hammelfleisch verursachten epidemieartigen Massenerkrakungen aus den Stühlen — neben Gärtnerschen Bazillen — dasselbe Mikrob. Was nun den Befund von Cayrel anbelangt, so ist es klar, daß die beschriebene Epidemie durch den Gärterschen Bazillus verursacht war. Bezüglich der Fälle Peckhams kann angenommen werden, daß dieselben echte Dysenterie-Erkrankungen waren; da aber die Herauszüchtung der krankheitserregenden Keime nicht gelang — was doch bei Dysenterie-Fällen verhältnismäßig oft vorkommt — wurde die

Aufmerksamkeit auf die in den Stühlen vermehrten Enterokokken gelenkt und angenommen, daß letztere die Erreger der Epidemie waren.

Nach alledem scheint die Annahme berechtigt, daß die Bedeutung des Enterokokkus in der Darmpathologie überschätzt wurde, denn es ist klar, daß dieses Mikrob bei den im Darm sich abspielenden Krankheitsprozessen von parasitärem, sowie mechanischem Ursprung, eine völlig untergeordnete Rolle spielt; es ist nicht imstande, pathologische Prozesse hervorzurufen, im Laufe der letzteren aber kann es sich, manchmal sehr beträchtlich, vermehren.

b) Die pathologische Bedeutung des Enterokokkus in der Mundhöhle.

Es ist zwar das Vorkommen des Enterokokkus in der Mundhöhle und im Rachen eine ziemlich bekannte Tatsache, doch finden sich bezüglich seiner pathologischen Bedeutung nur wenig Spuren in der Literatur. Laut Mitteilungen einiger Autoren kann aber eine solche angenommen werden, da Enterokokken in einigen Fällen aus dem Blute gezüchtet wurden; ist doch der Zusammenhang von Infektionen der Rachenorgane mit den verschiedensten metastatischen Prozessen — welcher immer eine Bakteriämie vorangehen muß — allbekannt.

Wie schon erwähnt, konnte ich in der Mundflora, bzw. im Alveolareiter von 51 Pyorrhöa-Kranken den Enterokokkus in 42 Fällen herauszüchten; darunter enthielt der Alveolareiter ihn in 11 Fällen in Reinkultur. Dabei versuchte ich die Behandlung der Alveolarpyorrhöa mittels einer Autovakzine, hergestellt mit den Bakterien des Alveolareiters. Diese Behandlungen hatten beinahe in allen Fällen, wo neben Enterokokken auch andere Eitererreger (Staphylokokkus, Streptococcus pyogenes, Micrococcus katarrhalis etc.) herausgezüchtet wurden, und wo die Autovakzine-Behandlung mit letzteren Bakterienarten geschah — einen vorzüglichen Erfolg. (Die Eiterung der Alveolen hörte auf, die Zähne wurden fest.) In den Fällen aber, wo das Alveolarexsudat die Enterokokken in Reinkultur enthielt, und die Behandlung mittels einer Enterokokken-Autovakzine durchgeführt wurde, blieb der Erfolg aus; es änderten sich aber die Verhältnisse bei diesen 11 Fällen wesentlich, als zum Zwecke der Behandlung statt der Enterokokken eine mit, von der Tonsillen-Oberfläche gewonnenen anderen, Kokken bereitete Autovakzine verwendet wurde; auf diese Art wurden nämlich 4 von den 11 Fällen eine ebensolche Besserung erreicht, wie die übrigen 31 Fälle.

Nach dem obigen kann die untergeordnete Bedeutung des Enterokokkus in der Mund und Rachenflora kaum bezweifelt werden, wenn sie auch an, durch andere Mundmikroben überschwemmten Stellen zu ihrer Vermehrung so günstige Verhältnisse finden können, daß sie die primären Keime völlig in den Hintergrund drängen.

Daß bei Stomatitiden dem Enterokokkus keine bedeutendere Rolle zukommt, kann schon aus dem Umstand gefolgert werden, daß er von den untersuchten 9 Fällen nur in 5 gefunden wurde. Auf den Tonsillen vermehrt sich der Enterokokkus auch unter pathologischen Verhältnissen nicht; im Gegenteil, bei Tonsillitiden können — neben den stark vermehrten anderen Bakterienarten — die Enterokokken nur spärlich oder überhaupt nicht gefunden werden. Hierdurch ist es gar nicht wahrscheinlich, daß dieses Mikrob von den

Lymphorganen des Rachens aufbrechend, eine Bakteriämie hervorzurufen imstande wäre.

Was nun die Zahnkrusten anbelangt, so ist es auffallend, daß beim Vorhandensein solcher die Enterokokken in der Mundhöhle stets vermehrt gefunden wurden. Nimmt man nun an, daß zwischen der Bildung von Zahnkrusten und dem Chemismus der Mundhöhle ein Zusammenhang besteht, so könnten bei der Erzeugung dieser chemischen Bedingungen die Enterokokken, bzw. ihre Stoffwechselprodukte eine wichtige Rolle spielen; umgekehrt, können aber auch jene chemischen Verhältnisse, welche die Bildung von Zahnkrusten zu fördern imstande sind, für die Vermehrung der Enterokokken günstige Bedingungen schaffen. Für die Richtigkeit der letzteren Auffassung spricht der Umstand, daß der Bildung von Zahnkrusten die Vermehrung von Enterokokken überhaupt nicht voranzugehen braucht.

Den in der Mundhöhle befindlichen Enterokokken kann sonach keine pathologische Bedeutung zugeschrieben werden; das Mikrob spielt auch hier die untergeordnete Rolle eines völlig harmlosen Saprophyten.

c) Die pathologische Bedeutung des Enterokokkus in den Harnwegen.

Bezüglich der pathologischen Rolle des Enterokokkus bei den Infektionen der Harnwege sind die Angaben von Meyer (1) und Schmitz (2) von großer Wichtigkeit. Meyer züchtete das Mikrob aus dem Harne von Pyelocystitis-Kranken in 45 Fällen heraus, darunter 12mal in Reinkultur. Dieser Umstand macht es nach Meyer zweifellos, daß den Darmstreptokokken in der Pathologie der Harnwege eine bedeutungsvolle Rolle zukommt. Schmitz stützt diese Beobachtungen von Meyer, indem er schreibt: „In den Fällen, wo man ihn (den Enterokokkus) in Reinkultur findet, ihn als Erreger des betreffenden Krankheitsprozesses anzusehen, dürfte seine Berechtigung haben."

Im Laufe meiner Untersuchungen analysierte ich den Harn von 140 Pyelocystitis- bzw. Pyelonephritis-Kranken; unter diesen konnte ich die Enterokokken in 86 Fällen herauszüchten. Das Mikrob wurde immer in Gesellschaft der verschiedensten exogenen und endogenen Keime gefunden (s. das vorige Kapitel), in Reinkultur aber in keinem Falle. Bei 14 dieser 86 Fälle, die spezifisch behandelt wurden[1]), ergab die bakteriologische Untersuchung folgende Resultate:

Enterokokkus + Bact. Coli	in 4 Fällen
Enterokokkus + Bact. Fluorescens	„ 2 „
Enterokokkus + Lactis aerogenes	„ 2 „
Enterokokkus + Bact. Coli + Staphylokokkus	„ 1 Fall
Enterokokkus + Staphylokokkus	„ 1 „
Enterokokkus + Gonokokkus + Bact. Coli	„ 2 Fällen
Enterokokkus + Gonokokkus + Bact. Coli + Staphylokokkus	„ 1 Fall
Enterokokkus + Gonokokkus + Staphylokokkus	„ 1 „

In 2 Fällen von den 4 Enterokokkus + B. Coli-Infektion wurde eine Enterokokken-Autovakzine, in einem Falle eine Coli-Enterokokkus-Mischvakzine, und in einem Falle eine Coli-Autovakzine ver-

1) Die Kranken wurden in der Urologischen Klinik (Direktor: Prof. Dr. Géza v. Illyés) beobachtet und behandelt.

abreicht. Bei den beiden ersten Kranken besserten sich weder die klinischen Symptome noch der bakteriologische Befund; beim 3. verminderte sich neben völligem Schwund der klinischen Symptome auch die Bakteriurie bedeutend, so daß nach der Behandlung nur eine einzige Kolonie des Coli-Bazillus wuchs. Dasselbe war der Fall auch beim mit Coli-Autovakzine behandelten Kranken. — Bei einer von den 2. Infektionen mit Enterokokkus + Bac. fluorescens verwendete ich eine reine Fluorescens-Autovakzine, wonach die Bakteriurie völlig aufhörte; beim anderen dagegen konnte ich auch mittels einer, stark dosierten Enterokokkus-Autovakzine keinen Erfolg erreichen.

Es soll hier von der Mitteilung der Krankheitsgeschichten abgesehen werden, nur sei kurz bemerkt, daß bei allen Mischinfektionen dieselben Verhältnisse obwalteten, d. h. die mittels Enterokokken durchgeführte Autovakzination beeinflußte weder klinisch noch bakteriologisch die Krankheit, dagegen gelang die Heilung mittels der anderen Mikrobenarten ohne irgendwelche Schwierigkeit.

Die Bedeutung der bei den Infektionen des urogenitalen Traktes vorkommenden Mikrobenarten ist sonach keine gleiche. Die Entwicklung solcher Vorgänge kann man sich auf die Weise vorstellen, daß in die Harnwege anfangs nur eine Mikrobenart eindringt, welche den Krankheitszustand verursacht und unterhält. Im Laufe dieses, durch das primäre Agens hervorgerufenen Prozesses vermindert sich aber die Widerstandsfähigkeit der angegriffenen Gewebe, wodurch die Ansiedlung anderer Keime daselbst ermöglicht wird. Die Bedeutung der sekundär eingedrungenen Keime bezüglich Erhaltung bzw. Weiterentwicklung des Krankheitsprozesses kann eine völlig verschiedene sein. Gewisse sekundäre Keime können letzteren steigern, oder qualitativ ändern, andere dagegen verhalten sich rein als Saprophyten. Letztere aus dem infizierten Organ zu eliminieren, hat natürlich die Bedingung, daß die primären Erreger zufolge irgendwelcher Einwirkung zugrunde gehen; daraus aber folgt, daß bei Mischinfektionen die spezifische Therapie immer gegen den primären Krankheitserreger gerichtet werden soll, worauf die bedeutungslosen Saprophyten ohne weiteres verschwinden.

Nach diesen Erwägungen kann nun die Antwort auf die Frage, ob den Enterokokken bei den Infektionen der Harnwege eine ätiologische Rolle zugeschrieben werden kann — mit Hinsicht auf unsere Autovakzinationsversuche — nur eine negative sein.

Wie kann aber dieser Schluß mit Meyers Befund, wonach Enterokokken in 12 Fällen aus dem Harne von Pyelocystitis-Kranken in Reinkultur erhalten worden waren — in Einklang gebracht werden? — Untersucht man nach einer erfolgreichen Autovakzine-Behandlung den Harn der Rekonvaleszenten einige Wochen lang wiederholt — so findet man, daß zuerst die primär-infizierenden Keime verschwinden, während der Schwund der akzessorischen Saprophyten gewöhnlich erst einige Wochen später erfolgt. Dieses Verhalten, welches eine weitgehende Analogie mit den bei Colitis-Rekonvaleszenten sich äußernden Verhältnissen aufweist, gewinnt eine völlig befriedigende Erklärung, wenn man bedenkt, daß sich durch Abschaffung des primären Agens die Möglichkeit der Genesung einstellt und diese den Schwund der Saprophyten nach sich zieht. Auf diese Weise wird Meyers Beobachtung leicht verständlich, ohne den Enterokokken eine pathogene Rolle zuschreiben zu müssen.

Bei chronischen Urethritis-Fällen konnte ich bezüglich der pathologischen Rolle des Enterokokkus keine exakten Beobachtungen machen — einerseits wegen Unzulänglichkeit des untersuchten Materials, anderseits wegen der Schwierigkeit der wirksamen Autovakzine-Behandlung. Nach den obigen aber kann wohl angenommen werden, daß dem Darmstreptokokkus auch bei solchen Vorgängen keine Bedeutung zukommt.

Der Besprechung der Pathogenitätsfrage sollen endlich noch einige Bemerkungen zugefügt werden.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen bezogen sich bloß auf die Darm- und Mundhöhle, sowie auf den urogenitalen Trakt, während andere Organe, wo Enterokokken nach einigen Autoren eine namhafte pathologische Rolle spielen, nicht untersucht wurden. Zu diesen gehören in erster Linie die Gallenwege, wo nach Meyer den Enterokokken eine außerordentlich wichtige pathologische Rolle zukommt. Das Vorkommen der Enterokokken im Blute und auf Wunden (Tissier) (5) wurde gleichfalls nicht untersucht. Die Erfahrungen aber, welche ich im Laufe meiner Untersuchungen machte, sprechen zweifellos für die absolute Saprophytennatur des Enterokokkus. Daß der Enterokokkus Erreger der puerperalen Sepsis sein könnte — wie es Thiercelin annimmt (6) — halte ich direkt für ausgeschlossen.

Meyers Anschauung, als hätten in pathologischen Beziehungen Enterokokken und Coli-Bazillen annähernd dieselbe Bedeutung, findet durch meine Untersuchungen keine Stütze. Meiner Auffassung nach spielt der Bac. Coli zusammen mit einigen anderen Darmbakterien (pyocyaneus, fluorescens, faecalis alcaligenes, proteus etc.) die Rolle echter Krankheitserreger, wogegen der Enterokokkus erst im Laufe von durch erstere hervorgerufenen Krankeitsprozessen in die infizierten Organe (Gewebe) einzudringen vermag und sich dort als ein völlig harmloser Saprophyt verhält.

Es soll endlich das serologische Verhalten des Enterokokkus kurz berührt werden. Für dieses Mikrob ist eine absolute serologische Inaktivität recht charakteristisch; alle meine Bestrebungen, ein wirksames Enterokokkus-Immunserum herzustellen, blieben erfolglos; weder Agglutination, noch bakteriotrope Wirkung konnte ich erzielen. Diese immunbiologische Passivität der Darmstreptokokken stimmt mit der Erfahrung überein, daß mit diesem Mikroorganismus eine erfolgreiche spezifische Therapie nie gelungen war. Meine diesbezüglichen Erfahrungen stehen in völligem Gegensatz zu der Mitteilung von Thiercelin und Cepede (14), wonach die Enterokokken-Autovakzine bei den verschiedensten Vorgängen mit bestem Erfolg angewendet worden war. Die bezüglich des serologischen Verhaltens des Enterokokkus durchgeführten Untersuchungen sollen übrigens später veröffentlicht werden.

Zusammenfassung.

1) Der Enterokokkus besitzt gut umschriebene morphologische und biologische Eigenschaften. — 2) Der Enterokokkus ist in der Darm- und Mundhöhle auch unter normalen Verhältnissen vorhanden; er kann sich bei Erkrankungen dieser Organe stark vermehren. Bei Mischinfektionen der Harnwege kommt er in Gesellschaft von anderen

exogenen und endogenen Keimen vor. — 3) Der Enterokokkus scheint keine pathologische Bedeutung zu haben.

Literatur.

1) Meyer, Klin. Wochenschr. Bd. 50. 1924. S. 2291. — 2) Schmitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. S. 277. — 3) Donaldson, Brit. med. Journ. 1917. p. 188. — 4) Schmitz, Centralbl. f. Bak. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. S. 51. — 5) Tissier, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 30. 1916. p. 681. — 6) Thiercelin, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 64. 1908. p. 76. — 7) Escherich, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 49. 1899. S. 137. — 8) Roger, Widal, Teissier, Noveau traité de médicine. Paris. 1920. — 9) Peckham, Centralbl. f. Bak. Abt. I. Ref. Bd. 72. S. 410. — 10) Cayrel, Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 79. 1916. p. 13. — 11) Went, Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 20. — 12) Rocchi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. S. 520. — 13) Went, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 41. — 14) Thiercelin-Cepede, Compt. Rend. Acad. Scienc. T. 165. 1917. p. 732.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das Zellenbild des spontanen Mäusekrebses, mit Bemerkungen über die Entstehung des Krebses.

3. Mitteilung.

[Aus dem Preuß. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch", Abteilung Prof. Dr. Jos. Koch, Berlin.]

Von Prof. Dr. **Jos. Koch.**

Mit 3 Tafeln.

Allgemeines.

Der hämorrhagische Mäusekrebs bildet sich meist zwischen Haut und Muskulatur in dem lockeren Unterhautzellgewebe in der Form abgegrenzter rundlicher erbsen- bis kleinwallnußgroßer Geschwülste. Die Geschwulst selbst besteht gewöhnlich teils aus graurötlichem solidem Tumor-, teils aus bereits hämorrhagisch erweichtem Gewebe. Die letzteren Stellen verraten sich oft schon äußerlich durch ihre schwarzrote Verfärbung. In den Frühstadien der hämorrhagischen Erweichung befindet sich das Blut meist noch im flüssigen Zustande; die Blutkörperchen sind durchweg noch gut erhalten. In den späteren Stadien wird das Blut manchmal teerartig und gerinnt zu einer schwarzroten Masse. Mikroskopisch besteht es aus noch erhaltenen, aus bereits veränderten roten Blutkörperchen, kleinen Epithelverbänden, aus Zelltrümmern, Fettmolekülen, Pigment und anderen schwer zu deutenden zelligen Gebilden.

Das Zellenbild der spontanen Mäusetumoren ist wesentlich einfacher als das der menschlichen Krebse, bei denen geradezu eine „Zellenanarchie" herrscht. Die geringe Zahl der Zelltypen der Mäusekrebse rührt daher, daß das Stroma meist gering entwickelt ist. Somit fällt die oft erhebliche Anzahl der verschiedenen Zelltypen des bindegewebigen Anteils des menschlichen Krebses hier weg. In einem Abstrichpräparat von einem spontanen Mäusetumor kommen Stromazellen

kaum in Betracht. Das Zellenbild wird durch die Epithelien beherrscht, welche die Hauptmasse der Geschwulst bilden. Daher macht es auch nicht den verwirrenden Eindruck wie das Abstrichpräparat eines zellreichen menschlichen Krebses; es ist deshalb auch weit übersichtlicher und leichter zu bestimmen.

Die Untersuchung erstreckt sich zweckmäßig sowohl auf den Inhalt der hämorrhagisch erweichten Teile als auch auf das noch erhaltene Geschwulstgewebe.

Das vital gefärbte Präparat.

Die Technik habe ich in meiner ersten Mitteilung: Die Erschließung des Zellbildes bösartiger Geschwülste. Ueber artfremde Zellen im Krebs. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. H. 5/6 geschildert. Vermischt man einen Tropfen der hämorrhagischen Flüssigkeit mit 1 oder 2 Tropfen eines unverdünnten Methylgrün-Pyronin-Gemisches[1]) und betrachtet die also vital gefärbten Zellen im hängenden Tropfenpräparat, so sind es zunächst die Epithelzellen, die einzeln oder noch in kleinen Verbänden zusammenliegend, dem Auge des Beobachters begegnen. Sie sind mit einem verhältnismäßig großen ovalen oder rundlichen Kern ausgestattet, der sich mit dem Methylgrün gewöhnlich graublau färbt, während das in Einzahl oder in zwei bis drei Exemplaren vorhandene Kernkörperchen eine dunkelrote Farbe annimmt. Das Zellprotoplasma erscheint meist rot oder rosa gefärbt. Es enthält oft vereinzelte glänzende Granula, deren Größe wechselt (siehe Taf. III Zeichn. Nr. 1c, d).

Spärlicher und oft nur vereinzelt erblickt das Auge Zellen, deren Kern sich den grünblauen Farbstoff des Methylgrüns angeeignet haben, während das Protoplasma ungefärbt geblieben ist. Der blaue Kern, der eine kompakte Masse bildet und ein Kerngerüst nicht besitzt, bildet mit dem hellglänzenden Protoplasma einen starken Kontrast. Die Bezeichnung „blauweiße" ist daher auch für diese im spontanen Mäusekrebs vorkommende Zellen durchaus passend. Sie fallen unter den Epithelien auch dadurch auf, daß die rote Farbe des Pyronins in ihnen nicht vertreten ist; denn ein Kernkörperchen ist bei ihnen mit der Vitalfärbung nicht nachweisbar. Der meist verhältnismäßig große runde oder ovale Kern liegt in einem weißen hellen Protoplasma, das von einer hyalinen Beschaffenheit ist und stark lichtbrechende Granula von verschiedener Größe und Zahl einschließen kann. Einzelne der blauweißen Zellen scheinen auch einen Hohlraum, eine Art Vakuole, zu enthalten. Der Zelleib ist oft außerordentlich schmal und umgibt den Kern in der Form eines hellen Saumes, so daß dieser selbst in der vital gefärbten Zelle leicht übersehen werden kann.

Man sieht hin und wieder blauweiße Zellen, die mehrere Kerne von verschiedener Größe haben. Meist hängt dieses mit Teilungsvor-

---

1) Das Methylgrün-Pyroningemisch wende ich jetzt in folgender Zusammensetzung an:

Methylgrün G.R.	0,23
Pyronin M. extra	0,3
Alkohol	7,5
Glyzerin	20,0
Karbolwasser $^1/_2$proz. ad	100,0

Die Lösung ist von Grübler, Leipzig unter der Bezeichnung Karbol-Methylgrün-Pyronin zur Vitalfärbung nach Jos. Koch, zu beziehen.

gängen zusammen; über weitere Kernverhältnisse wird später noch zu sprechen sein.

Als ein auffallendes Merkmal muß hier hervorgehoben werden, daß die Größe der Zellen bedeutenden Schwankungen unterworfen ist. Der Durchmesser der größten Formen mag ungefähr 10—12 μ betragen; es gibt aber auch sehr kleine Zellen, ja einzelne sind so winzig, daß sie kaum Kokkengröße erreichen; aber selbst bei diesen winzigen Zellen ist der blaue Kern sehr scharf und deutlich zu erkennen, der oft nur von einer geringen Menge eines hellen ungefärbten Protoplasmas umgeben ist.

Es ist weiter eine sehr bemerkenswerte Tatsache, daß die Gestalt der blauweißen Zellen im Gegensatz zu der der Epithelien veränderlich ist. Im allgemeinen haben die ersteren eine rundliche oder polygonale Form, zumal wenn sie in kleineren Verbänden zusammenliegen (siehe Taf. III, Fig. 1 b). Doch sieht man auch solche, die Fortsätze des Zelleibes aufweisen. Betrachtet man blauweiße Zellen im hängenden Tropfen längere Zeit, so kann man in einzelnen Fällen selbst noch an vital gefärbten Exemplaren Veränderungen ihrer Gestalt wahrnehmen oder Verschiebungen der Granula innerhalb des Zelleibes. Die Bewegungen des Protoplasmas sind allerdings sehr geringfügig. Es bedarf längerer und sehr genauer Betrachtung, um dies festzustellen. Aber darüber besteht kein Zweifel, daß die Zelle amöboider Bewegung fähig ist. Sie unterscheidet sich dadurch in einem sehr wichtigen Punkte von der Epithelzelle, die ihre ursprüngliche Form bewahrt und Veränderungen nicht erkennen läßt.

Es scheint, daß nicht nur das Protoplasma, sondern auch der Kern der blauweißen Zelle die Fähigkeit hat, amöboide Bewegungen auszuführen. Das klingt zunächst befremdlich; aber die elektive Färbung des Kernes gibt uns die Möglichkeit, seine Lage in der Zelle jederzeit zu erkennen. Nun sieht man gar nicht so selten, daß der Kern randständig gelegen ist, ja hin und wieder liegt ein kleiner Teil der blauen Kernmasse nach Art eines Fortsatzes außerhalb des Zelleibes, während der andere Teil noch darin steckt (siehe Tafel 3 Zeichn. 2a, b). Man kann diese Bilder kaum anders deuten, als daß der Kern imstande ist, seine Gestalt zu verändern, Teile abzustoßen oder sogar aus der Zelle auszutreten. Vielleicht sind auch die kleinen Kernteile, die zuweilen in einer Zelle neben dem großen kompakten Hauptkern sichtbar sind, auf diesen Vorgang zurückzuführen, d. h. es können sich von dem Hauptkern kleinere Nebenkerne abspalten. Daß der Kern in der Zelle seine Lage wechseln kann, davon habe ich mich im hängenden Tropfenpräparat auf dem geheizten Objekttisch überzeugen können. Ja, diese Bewegungen des Kernes lassen sich zuweilen sogar noch an der vital gefärbten Zelle beobachten. Daß ich keiner Täuschung unterlegen bin, beweist folgender Vorfall. Herr Maler Landsberg, dem ich den Auftrag gegeben hatte, einzelne blauweiße Zellen zu zeichnen, machte mich auf Verschiebungen des Kernes in der Zelle aufmerksam, ohne daß er von meinen eigenen Beobachtungen Kenntnis hatte. Auf Tafel 3 Zeichn. 3a, b, c hat er verschiedene Phasen einer Kernverschiebung in einer blauweißen Zelle während eines Zeitraumes von etwa 20 Minuten Dauer festgehalten.

Die amöboide Bewegung der blauweißen Zelle studiert man natürlich am besten an einem hängenden Tropfenpräparat auf dem geheizten Objekttisch. Um die Lebensfähigkeit der Zellen nicht zu schä-

digen, muß man allerdings auf die Vitalfärbung verzichten. Aber auch die nicht gefärbte blauweiße Zelle ist unter den roten Blutkörperchen eines hämorrhagisch erweichten Tumors verhältnismäßig leicht an ihrem glänzenden Aeußeren zu erkennen. Um das nötige Material zu gewinnen, ist es nicht einmal notwendig, die tumortragende Maus zu töten. Man kann die erweichten Stellen auch mit einer nicht zu dünnen Kanüle punktieren und etwas Flüssigkeit aspirieren. Ein kleines Tröpfchen wird dann auf ein steriles Deckgläschen gebracht, zu einem flachen Tröpfchen ausgebreitet, das auf einem mit Vaseline umrandeten hohlgeschliffenen Objektträger befestigt wird, worauf die Betrachtung auf dem heizbaren Objekttisch beliebig lange Zeit fortgesetzt werden kann.

Ueber die Art der amöboiden Bewegung der blauweißen Zellen kann ich bis jetzt nichts Bestimmtes sagen, weil im spontanen Mäusetumor noch andere amöboide Zellen vorkommen, die allerdings an Größe die blauweißen Zellen weit überragen, deren kleinste Formen im ungefärbten Zustande jedoch mit den größten Exemplaren der blauweißen Zellen immerhin verwechselt werden könnten. Auf die Einzelheiten werde ich bei der Beschreibung dieser Zellart näher eingehen.

Ob die blauweißen Zellen imstande sind, auch fremde körperliche Stoffe sich einzuverleiben, lasse ich dahingestellt. Es ist mir bisher nicht gelungen, außer vereinzelten Fettgranula in ihrem Zelleibe fremden Inhalt nachzuweisen. Sie haben also zwar amöboide Fähigkeiten, scheinen aber über ein phagozytäres Vermögen nicht zu verfügen.

Häufiger als in dem Inhalt der zystisch-hämorrhagisch entarteten Teile des Mäusekrebses sind die blauweißen Zellen in Abstrichen des soliden unveränderten Geschwulstgewebes anzutreffen. Sie liegen augenscheinlich regellos verstreut zwischen den Epithelzellen und sind nicht leicht von ihnen abzugrenzen, da meist nur der blaugefärbte Kern, selten das hyaline ungefärbte Protoplasma sich von der Umgebung deutlich abhebt. Wenn sie zu mehreren in einem kleinen Verbande zusammenliegen, was hin und wieder festzustellen ist, so haben sie meist eine polygonale Gestalt (siehe Tafel III, Zeichn. 1b). Oefter trifft man auch eine blauweiße Zelle innerhalb des Zelleibes einer Epithelzelle an. Die blauweißen Zellen kommen also sowohl zwischen als auch innerhalb der Epithelzellen vor. Es gibt demnach auch beim spontanen Mäusekrebs intra- und extrazelluläre Formen, ein Verhältnis, wie wir es auch bei den blauweißen Zellen des menschlichen und des experimentellen Mäusekrebses festgestellt haben und das für die Beurteilung dieser Zellart von großer Wichtigkeit ist (Taf. III, Zeichn. 1d).

Sowohl in den regressiv veränderten als auch im noch erhaltenen Geschwulstgewebe eines spontanen Mäusekrebses kommt, wie das vital gefärbte Präparat uns zeigt, neben dem Epithel- und den blauweißen Zellen noch eine dritte Zellart vor, die einmal durch die auffallende Größe mancher Exemplare und zweitens durch ihren eigenartigen Bau die Aufmerksamkeit des Untersuchers auf sich zieht. Auch ohne Vitalfärbung sind diese großen Gebilde unter den anderen Zellen und zelligen Bestandteilen eines Präparates leicht herauszufinden. Sie erwecken zunächst den Eindruck von gekörnten Zellen, deren Größe ebenfalls in weiten Grenzen schwankt. Die kleinsten messen vielleicht 15—20 μ im Durchmesser, die größten 50 μ und darüber.

Die Mehrzahl der Zellen sind rund, zuweilen kreisrund, andere von länglich-ovaler Form, die mittleren manchmal ei- oder birnförmig; daneben gibt es aber auch Zellen von sehr unregelmäßiger Gestalt.

Bei schwächerer Vergrößerung sind sie außer durch ihre Größe oft schon durch ihre Farbe von der Umgebung leicht zu entdecken. Viele nämlich sind pigmentiert und haben einen gelb-rötlichen Farbenton. In älteren Tumoren sieht man Exemplare, die eine gelb-grüne und bräunlich-rote Farbe haben; sonst erscheinen sie weiß oder grauweiß.

Eigenartig ist der Bau ihres Zelleibes. Die größten scheinen aus einer großen Zahl stark lichtbrechender Ballen, Kugeln oder Hohlräume von durchschnittlich gleicher Größe zusammengesetzt zu sein; die größten Kugeln haben einen Durchmesser von etwa 12:2 μ, die kleinsten gehen herunter bis zu etwa 5 μ, andere Zellen scheinen wieder aus kleineren lichtbrechenden Granulis zu bestehen und wieder andere machen den Eindruck, als sei ihre Oberfläche mit Buckeln und Höckern bedeckt (s. Taf. I, Photogr. 1, 2 u. Taf. II, Photogr. 8).

Außer diesen Formen, die wirklich den Namen gekörnte Zellen verdienen, sieht man auch solche mit einem ausgesprochenen wabigen Bau und andere, die nur aus einer größeren Zahl von Vakuolen bestehen. Je nach der Zusammensetzung aus größeren Kugeln, Vakuolen oder Kammern und kleinen granulaähnlichen Elementen lassen sich vielleicht zwei Typen unterscheiden: eine vakuolär gebaute amöbenartige und eine granuläre maulbeerartige Form.

Ein Ausnahmebefund sei hier noch erwähnt: vereinzelt kommen große Zellen vor, die ein zartes, fast homogenes Protoplasma haben, in dem eine Anzahl Granula liegt. Ein derartiges Exemplar habe ich auf Tafel III Zeichn. 5d wiedergegeben.

Bei der Betrachtung des ungefärbten Präparates läßt sich in der einzelnen Zelle der Kern nicht deutlich erkennen; aber scharf und klar tritt dieser in vielen Exemplaren bei der Vitalfärbung hervor. Im Protoplasma, zwischen den verschiedenen Granula eingebettet, liegen meist ein, öfter zwei, ganz vereinzelt drei und vier Kerne. Der blaugefärbte Kern ist einfach gebaut, meist bläschenförmig, chromatinarm und enthält gewöhnlich ein bis zwei rotgefärbte Kernkörperchen.

Die Zellen haben einen ziemlich festen Zusammenhang; denn sie ertragen den mäßigen Druck des Deckgläschens, ohne ihre Gestalt zu verlieren; erst bei den großen, aus runden Kugeln bestehenden Formen scheint der Zusammenhang geringer zu sein, so daß sie durch Druck, vielleicht auch spontan auseinandergehen und in ihre einzelnen Elemente sich auflösen können.

Fremder Inhalt im Innern des Protoplasmas beweist, daß diese Zellen die Fähigkeit haben, andere körperliche Elemente aufzunehmen. Ihr phagozytäres Vermögen scheint sogar außergewöhnlich groß zu sein.

Was es für Gebilde sind, welche die Zellen sich einverleibt haben, ist in den einzelnen Fällen nicht leicht zu entscheiden. Rote Blutkörperchen scheinen sie mit Vorliebe zu fressen; im ungefärbten Präparat begegnet man Zellen, die mit roten Blutkörperchen vollgestopft sind und in denen kaum etwas anderes als rote Blutscheiben oder deren Trümmer wahrzunehmen sind (s. Taf. III, Zeichn. 5a, b, c). Die oft gelbrote oder bräunliche Farbe der Zellen kommt wohl dadurch zustande, daß sich das Hämoglobin der gefressenen roten Blutkörperchen als gelbrotes Pigment in amorphen Körnern und Schollen innerhalb

des Zelleibes anhäuft; ja in einzelnen Fällen erscheint es sogar in der Form rotgelber Hämatoidinkristalle (s. Taf. II, Photogr. 8).

Auch Fett findet sich im Innern dieser großen Zellen. Durch die Indophenolsynthese kann es nachgewiesen werden. Die Methode des Nachweises hat Zettnow eingehend geschildert. Ich verweise auf seine Mitteilungen im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. H. 5/6. S. 372. Wie die Mikrophotogramme Zettnows, der eine Anzahl von Zellen auf ihren Gehalt an Fett geprüft hat, zeigen, ist die Menge des Fettes in den einzelnen Exemplaren sehr verschieden [Taf. I. Photogr. 4, 5, 6].

Die Aufnahme von roten Blutkörperchen, von Fett, Pigment oder anderen körperlichen oder zelligen Elementen kommt durch eine aktive amöboide Tätigkeit der Zellen zustande. Auf dem heizbaren Objekttisch kann man zwei Arten von Bewegungen an der Zelle wahrnehmen: Erstens die Zelle verändert ihre Gestalt, zweitens sie ist imstande, sich vorwärts zu bewegen und eine Ortsveränderung vorzunehmen. An der Unterlage pflegen sie jedoch ziemlich fest zu haften; denn selbst dort, wo es zu einer lebhaften Strömung der roten Blutkörperchen in dem Deckglaspräparate kommt, bleiben die Zellen ruhig an Ort und Stelle liegen. Im allgemeinen ist die Ortsveränderung jedoch eine langsame und träge.

Daß im Innern selbst eine fortwährende Bewegung des Protoplasmas vorhanden ist, läßt sich am besten an Zellen von mittlerer Größe erkennen, die fremden Inhalt, z. B. rote Blutkörperchen aufgenommen haben. Man kann beobachten, wie diese Einschlüsse ihre Lage im Zelleib von Zeit zu Zeit gewechselt haben, wie z. B. zwei rote Blutkörperchen, die noch kurz vorher dicht beieinander lagen, später durch einen weiten Zwischenraum getrennt sind. Von der Zelle selbst werden Fortsätze ausgestreckt, und zwar konnte ich bisher 3 Arten Pseudopodien unterscheiden:

1) Bei den kleinen und mittleren Formen gewöhnlich breite und lappige Fortsätze; zartes, helles Protoplasma wölbt sich bruchsackartig als ein breites Pseudopodium vor (s. Taf. III, Zeichn. 5e) manchmal nur an einer Stelle, selten geht ein derartiger Fortsatz gleichzeitig noch an einer anderen Stelle von der Zelle aus.

2) Sehr feine zugespitzte Pseudopodien, Filopodien; derartige Fortsätze waren besonders an den größten Formen zu beobachten. An den feinen vorgestreckten Fäden ließen sich hin und wieder kleine Körnchen wahrnehmen oder Verdickungen, deren Lage verhältnismäßig schnell wechselte. Die Zahl der von einem Zellindividuum vorgestreckten Fortsätze kann eine bedeutende sein. In einem Falle konnte ich beobachten, daß ein ganzes Büschel von feinsten Filopodien ausgesandt wurde.

Ein 3. Typus der Pseudopodienbildung ist ein wurzelartiges Ausstrecken und Verästeln von Protoplasma nach allen Richtungen hin. Dieses zarte Wurzelwerk kann sehr leicht übersehen werden.

Das gefärbte Ausstrichpräparat.

Unsere weitere Aufgabe ist es, die mit der Vitalfärbung nachgewiesenen Zellarten auch im fixierten und gefärbten Ausstrichpräparat aufzusuchen. Ueber die Technik des Deckglasausstrichs, seine Fixierung

und Färbung habe ich in meiner ersten Mitteilung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. H. 5/6. S. 288) das Nähere mitgeteilt.

Will man sich ein möglichst genaues Bild der drei genannten Zellarten im Ausstrichpräparat verschaffen, so muß man natürlich verschiedene Färbungen anwenden. Als zweckmäßig empfehle ich die 24-stündige Färbung mit Methylgrün-Pyronin, Hämatoxylin-Delafield-Pikrinsäure oder Orange-Gegenfärbung usw.

Die besten Bilder erhielt ich jedoch, wenn ich Flemming-Präparate mit Safranin-Lichtgrün färbte. Aus diesem Grunde lege ich sie auch der folgenden Beschreibung zugrunde. Sie ist allerdings keine ideale Färbung und fällt nicht immer nach Wunsch aus, aber unter einer Anzahl von Ausstrichen sind immer einige, die den Anforderungen entsprechen. Notwendig ist allerdings, eine größere Zahl von Ausstrichen anzufertigen, da die Menge und Art der Zellen in den einzelnen Teilen der Geschwulst wechseln kann.

Wegweiser und Vergleichsobjekt bei der Bestimmung der Zellen sind auch hier wieder die Epithelzellen, die leicht und mit Sicherheit als solche erkannt werden können. Sie sind in den Ausstrichen vom soliden Tumorgewebe die beherrschende Zellart und werden vielfach in kleinen Verbänden zusammenliegend angetroffen. An Größe und Aussehen geben sie im allgemeinen ein so übereinstimmendes Bild, daß sie kaum zu verkennen sind. Eine eingehendere Beschreibung erübrigt sich daher.

Von dem regelmäßigen Bild, das die Epithelzellen im allgemeinen darbieten, weicht das der blauweißen Zellen nicht unerheblich ab. Am auffallendsten macht sich der kompakte Kern, der kein Chromatingerüst in den Epithelzellen erkennen läßt, durch seine intensiv rote Farbe bemerkbar. Ueberhaupt ist die durchweg gute Kernfärbung der blauweißen Zellen, sowohl der größten als auch der kleinsten besonders hervorzuheben. Der Zelleib umgibt den Kern entweder in der Form eines zarten Häutchens, das durch die Gegenfärbung mit Lichtgrün in vielen Fällen einen grünlichen Schimmer erhalten hat, in unregelmäßiger Weise; ein Teil hat auch eine unregelmäßige polygonale Gestalt und kann in diesem Zustande Epithelzellen sehr ähnlich werden (s. Taf. III, Zeichn. 4) oder die Zelle hat eine runde Form, wobei der Kern meist randständig gelegen ist. So bietet sie ein ziemlich charakteristisches Bild. Zwischen Kern und Zelleib besteht oft ein starkes Mißverhältnis, weil die Menge des Protoplasmas, das den Kern ganz oder teilweise umgibt, sehr geringfügig sein kann. Einem verhältnismäßig großen Kern liegt oft nur ein schmaler Saum von Protoplasma an. Ist es schon schwer, eine solch schmale Zone des Zelleibes bei den kleinen, blauweißen Zellen des vital gefärbten Präparates zu erkennen, so ist dies bei den Zellen des gefärbten Ausstriches ganz besonders der Fall. Das Protoplasma tritt gegen den Kern ganz in den Hintergrund. Aus diesem Grunde ist die blauweiße Zelle, wenn sie inmitten eines Epithelverbandes liegt, als solche meist nicht zu erkennen. Sichtbar ist nur der intensiv gefärbte Kern, der Zelleib läßt sich von seiner Umgebung wegen seiner Kleinheit und schlechten Färbbarkeit meist nicht abgrenzen.

Ueber das wichtige Verhältnis der blauweißen Zellen zu den Epithelien wäre hier noch einiges zu sagen.

Nicht nur zwischen, sondern auch im Protoplasma der Epithelzellen selbst kann die blauweiße Zelle gelegen sein. Untersucht man

daraufhin ein geeignetes Ausstrichpräparat, so erblickt man zuweilen eine Epithelzelle, die in ihrem Innern eine blauweiße Zelle beherbergt. Sie hat in diesem Falle gewöhnlich eine kreisrunde Gestalt und einen randständigen Kern. Die blauweiße Einschlußzelle zeigt also hier dasselbe Bild wie die des menschlichen und des experimentell übertragbaren Mäusekrebses. Bei den intrazellulären Formen fällt der Größenunterschied der Einschlußzellen besonders in die Augen; ferner ist die Tatsache bemerkenswert, daß auch sehr kleine intrazelluläre blauweiße Zellen Kern und Zelleib deutlich erkennen und sich vom Protoplasma der Wirtszelle scharf abgrenzen lassen. Aus dem Umstande, daß die Einschlußzelle manchmal den Epithelkern mechanisch verdrängt oder schüsselförmig eingedellt hat, darf man wohl den Schluß ziehen, daß sie im Innern der Wirtszelle zu einem größeren Gebilde heranwachsen kann (s. Taf. III, Zeichn. 4a. b).

Ausstrichpräparate von spontanen Mäusekrebsen sind insofern ein gutes Objekt, das beiderseitige Verhältnis der blauweißen Zellen zu den Epithelzellen zu studieren, als nur zwei Zellarten als Vergleichsobjekt in Betracht kommen und nicht die große Zahl verschiedener Zelltypen des menschlichen Krebses. Allerdings sind die Zellen der spontanen Mäusetumoren im Durchschnitt viel kleiner und unscheinbarer, daher auch die Deutung der Zellbilder oft schwieriger; aber sonst stimmen die Verhältnisse des spontanen Mäusekrebses mit denen des menschlichen und des experimentellen Krebses vollkommen überein, wenigstens soweit die Beziehungen der Epithel- zu den blauweißen Zellen in Betracht kommen.

Die 3. Zellart des vitalgefärbten Präparates — die gekörnten oder die alveolär und granulär gebauten Zellen — haben im gefärbten Ausstrichpräparat viel von ihrem natürlichen und charakteristischen Aussehen eingebüßt. Sie sind durch den Prozeß der Fixierung und Färbung im allgemeinen recht unscheinbar geworden. Färbt man Flemming-Präparate mit Safranin-Lichtgrün oder mit einer Thioninlösung — denn auch diese eignet sich für Flemming-Fixierung — so erhält man einigermaßen gute Bilder, das Gitter- und Wabenwerk des Zelleibes, besonders aber der Kern tritt deutlich hervor. Er ist rund, kann aber auch anders gestaltet sein, enthält wenig Chromatin und zeigt ein oder mehrere Kernkörperchen. Durch ihren Kern kann die Zelle leicht von den blauweißen Zellen unterschieden werden. Mehrere Kerne in einer Zelle sind keine Seltenheit (s. Taf. 3, Zeichn. 6).

Ist in der Zelle fremder Inhalt nicht vorhanden, so erscheint sie klar und ungefärbt. Zuweilen hat sie jedoch mehrere blauweiße Zellen aufgenommen, die an ihrem intensiv roten kompakten Kern erkannt werden können. Man muß sich hüten, den Kern einer phagozytierten blauweißen mit dem Kern der Wirtszelle zu verwechseln (s. Taf. III, Zeichn. 6a).

Zellen, die sich mit Blutkörperchen oder anderen Zellresten beladen haben, sehen bei der Safranin-Lichtgrün-Färbung meist schmutzigbraunrot aus; von dem zierlichen Gerüstwerk des Zelleibes ist in solchen Exemplaren nichts zu sehen (s. Taf. III, Zeichn. 6).

Das Schnittpräparat.

Wie bereits oben erwähnt, neigen die Spontantumoren der Maus sehr zu regressiven Veränderungen. Selten besteht ein Tumor gänzlich

aus solidem Krebsgewebe, meist ist ein Teil der Geschwulst hämorrhagisch erweicht und zystisch entartet. In einem Schnittpräparat stoßen wir daher oft auf zahlreiche und verschieden große Hohlräume, die zuweilen nur durch ganz schmale Leisten von Bindegewebe getrennt sind; die kleinen haben hier und da sehr scharfe Ränder, als seien sie mit einem Locheisen ausgestoßen. Daneben befinden sich wieder Bezirke, in denen sich Epithelzelle an Epithelzelle reiht in der Form von soliden Zellnestern oder drüsenähnlichen Schläuchen.

Der Inhalt der zystisch erweichten Stellen besteht gewöhnlich aus roten Blutkörperchen, aus hyalinen Massen, aus scheinbaren Kernresten und Trümmern, die sich mit Safranin oder Thionin meist intensiv gefärbt haben, aus Pigment usw. Hier sind auch die großen vakuolären amöbenartigen Zellen anzutreffen; im allgemeinen ist ihr Vorkommen aber ein spärliches. Ihr wabig gebauter zarter Zelleib hebt sich zudem sehr wenig von der Umgebung ab. Haben sie kleine Fetttröpfchen aufgenommen, die durch die Osmiumsäure der Flemmingschen Lösung geschwärzt sind, oder sind sie pigmentiert, so verraten sie ihr Dasein durch die entsprechende Farbe. Auf Tafel I, Photogramm 3, habe ich einen zystischen Hohlraum mit einer Anzahl großer vakuolärer Zellen wiedergegeben. Sie machen hier ganz den Eindruck von amöbenartigen Zellen. Ihre Darstellung gelang mir am besten bei 24stünd. Thioninfärbung (s. Taf. I, Photogr. 7).

Viel schwieriger ist es aber, blauweiße Zellen im Epithelgewebe aufzufinden. Vereinzelt liegende können überhaupt nicht unter der Menge der übrigen Geschwulstzellen erkannt werden. Es fehlt ihnen jedes charakteristische Merkmal. Die Epithelien mit ihren Kernen beherrschen das Bild eines spontanen Mäusekarzinoms so vollständig, daß andere Zellen fast gänzlich in ihrer Masse verschwinden. Wir sind also nicht imstande, über ein etwaiges Vorkommen vereinzelter blauweißer Zellen im erhaltenen Krebsgewebe etwas Bestimmtes auszusagen und doch müssen sie — das vital gefärbte sowie das fixierte Ausstrichpräparat beweisen es ja — auch im soliden Krebsgewebe vorhanden sein. Das Suchen nach ihnen kann man sich nun wesentlich erleichtern, wenn man einen Schnitt zunächst mit schwächerer Vergrößerung durchmustert. In den meisten Tumoren kommen Stellen vor, wo das sonst so regelmäßige Bild der aneinandergereihten, zu alveolären Nestern und Schläuchen angeordneten Epithelzellen nicht mehr vorhanden ist, sondern zwischen ihnen dunklere und kleinere, wie Kerntrümmer aussehende Kerne auftreten. Bei Anwesenheit zahlreicher derartiger Kerne macht die Gewebspartie den Eindruck eines in Degeneration befindlichen, eines zerfallenen Gewebes. Untersucht man dann diese Stellen mit starken Vergrößerungen (Komp.-Okul. 6 u. 8), so sieht man, daß diese intensiv gefärbten kleinen Kerne vielfach intrazellulär gelegen sind, daß vor allem in den Randpartien des Degenerationsbezirkes größere Kerne mit außerordentlich kleinen, von Kokkengröße, abwechseln, ja, daß diese Gebilde keineswegs nur aus Kernchromatin bestehen, sondern auch hin und wieder einen Zelleib erkennen lassen. Es handelt sich also hier um intrazellulär gelegene blauweiße Zellen, und dieser Befund stimmt histologisch vollkommen überein mit dem Bilde des menschlichen und des experimentellen Mäusekrebses. Zu bemerken wäre noch, daß dort, wo die Epithelzellen von den kleineren blauweißen Zellen durchsetzt sind, gleichzeitig auch eine beginnende Degeneration,

eine Fettmetamorphose der Epithelzellen festzustellen ist. Sie kommt offenbar unter dem Einflusse der Einschlußzellen zustande. Um sich ein möglichst gutes Bild dieser Herde zu verschaffen, rate ich, außer der Safranin-Lichtgrün- noch andere Färbungen anzuwenden, die mit Methylgrün-Pyronin, mit dünner Hämatoxylin-Delafield-Lösung und Gegenfärbung mit wässeriger Pikrinsäure oder Kontrastfärbung mit wässeriger Orangelösung (siehe Anmerkung).

Bestimmung und Bedeutung der drei beschriebenen Zellarten für den spontanen Mäusekrebs. Allgemeine Bemerkungen über die Krebsentstehung überhaupt.

Nachdem wir die einzelnen Zellarten durch das vital gefärbte, das fixierte Ausstrich- und das Schnittpräparat verfolgt haben, kommen wir zu der wichtigen Frage, welche Stellung wir einer jeden unter den Gewebszellen des Mäuseorganismus einzuräumen haben, welche biologische Tätigkeit sie in der Krebsgeschwulst entfalten und ob etwa die eine oder die andere Zellart als eine heterologe oder artfremde anzusprechen ist.

Bei dieser Betrachtung scheiden die Epithelzellen, aus denen ja die Hauptmasse der Geschwulst besteht, ohne weiteres aus. Damit bleiben für die Fragestellung nur noch zwei Zellgruppen übrig. Denn darüber besteht kein Zweifel, daß die Epithelzellen als homologe, dem Mäuseorganismus angehörende Zellen anzusehen sind. Pathologisch ist nur ihre starke Vermehrung und ihre schrankenlose Wucherung. Eigentümlicherweise fehlt dem spontanen Mäusekrebs die Neigung zum infiltrativen Wachstum und zur Metastasenbildung. Das Wachstum der Geschwulst erfolgt gewissermaßen aus sich selbst heraus; sie hat also nicht den bösartigen Charakter des fressenden und zerstörenden menschlichen Krebses. Gutartig ist die Geschwulst aber trotzdem nicht. Denn ich habe noch keinen Fall erlebt, daß ein spontaner Mäusekrebs geheilt und die Trägerin des Tumors am Leben geblieben wäre.

Wenn wir annehmen, daß die Vermehrung und Wucherung der homologen, an sich gutartigen Epithelzellen im Mäuseorganismus durch einen Reiz verursacht wird, so stehen wir mit dieser Hypothese keineswegs auf schwankendem Boden, diese Annahme hat vielmehr die größte Wahrscheinlichkeit für sich.

Anmerkung: In der letzten Zeit verwende ich mit Vorliebe zur Färbung von Karzinomschnitten dünne Hämatoxylin-Delafield-Lösung mit Orangegegenfärbung; je nach der Konzentration der Farblösung läßt sich die Dauer der Tinktion stark abkürzen, so daß schon nach etwa einer halben Stunde ein klares Bild erzielt sein kann. Eine Differenzierung von Ausstrichen und Schnitten muß bei Hämatoxylinfärbung vermieden werden. Kontrastfärbung mit einer 1proz. wässerigen Orangelösung. Hier empfehle ich eine Ueberfärbung der Schnitte. Der Ueberschuß der Gegenfarbe wird in fließendem Wasser und 70proz. Alkohol entfernt. Der Gang der Färbung ist folgender:

1) Hämatoxylin-Delafield, dünne Lösung, $^1/_2$—24 Std., je nach Konzentration der Lösung.

2) Auswaschen in fließendem Wasser,

3) Kontrast und Ueberfärbung mit 1proz. wässeriger Orangelösung 10 bis 30 Minuten.

4) Entfernen des Ueberschusses des Orangefarbstoffes durch erneutes Auswaschen und Differenzieren in 70proz. Alkohol.

5) Steigende Alkoholreihe, Xylol, Zedernöl, Kerne schwarzblau bis schwarz, das übrige Gewebe hat einen gelben Farbenton, auch das Protoplasma der blauweißen Zellen hat sich meist gelb gefärbt.

Es fragt sich nur, welcher Art dieser Reiz ist. Kann es ein bakterieller sein? Abwegig ist dieser Gedanke durchaus nicht. Wir haben ja bei der Tuberkulose mit ihrem spezifischen Produkt, dem Tuberkelknötchen, das Beispiel einer Gewebswucherung durch einen parasitären Spaltpilz, den Tuberkelbazillus. Wir sehen auch beim Tuberkelknötchen zunächst eine Vermehrung der Gewebszellen, wir stellen die Bildung von epithelähnlichen, den epitheloiden Zellen fest; wir sehen die starke Kernvermehrung, z. B. in einer Riesenzelle, die durch die Anwesenheit, den Reiz eines einzigen Bazillus hervorgerufen sein kann; wir sehen endlich als zweite Phase der Anwesenheit des spezifischen Bazillus im Gewebe die deletäre Wirkung seiner Toxine, die Verkäsung der neugebildeten Gewebszellen.

Hat die Geschwulstentwicklung nicht vieles mit der Tuberkulose gemeinsam? Auch beim Krebs erfolgt zuerst eine Vermehrung und Wucherung arteigener Gewebszellen, zweitens ein Untergang und Zerfall des neugebildeten Epithelgewebes. Noch viel ähnlicher ist das makroskopische Bild, das die Verbreitung des Krebses auf dem Wege der Lymph- und Blutbahn, die Metastasenbildung in den verschiedenen Organen mit der tuberkulösen Infektion gemein hat. Geradezu vollständig ist die Uebereinstimmung beider Krankheitsprozesse bei der peritonealen Karzinose und Tuberkulose, bei der oft erst die histologische Untersuchung die Entscheidung bringt, ob es sich um einen tuberkulösen oder krebsigen Krankheitsprozeß handelt. Angesichts dieser Krankheitsbilder und unserer experimentellen Erfahrungen fällt es schwer, an eine spontane Krebsentstehung durch sogenannte „wild gewordene" Epithelzellen zu glauben. Seitdem ich als junger Assistenzarzt zum ersten Male einen Fall von peritonealer Karzinose gesehen und obduziert habe, der irrtümlicherweise für eine Peritonealtuberkulose gehalten worden war, hat mich der Gedanke der parasitären Entstehung des Krebses nicht mehr verlassen.

Sind wir aber berechtigt, auch für den Krebs eine bakterielle Ursache anzunehmen? Auf Grund des bereits bekannten Tatsachenmaterials und eigener Erfahrungen glaube ich, diese Frage mit Bestimmtheit verneinen zu können. Auch die Mitteilungen der neueren Krebsliteratur über das Vorkommen von Spaltpilzen, die so klein sein sollen, daß sie selbst Filter passieren, können mich in dieser Ansicht nicht irre machen. Ich selbst habe mich oft genug von dem Vorkommen von Bakterien im Krebsgewebe, auch in solchem nicht ulzerierter Tumoren, durch das Kulturverfahren und die mikroskopische Untersuchung überzeugen können. Eine ätiologische Bedeutung konnte ich ihnen in keinem Falle beimessen.

Kann der Reiz, der die unaufhaltsame Vermehrung der Epithelzellen verursacht, ein zellulärer sein? Schon die ersten Untersucher, die die Krebsgeschwulst zu erforschen trachteten, haben die Frage gestellt: „Gibt es eine spezifische, eine artfremde, d. h. parasitäre Zelle im Krebsgewebe?" Es war ja gewissermaßen die nächstliegende und wichtigste Frage des ganzen Krebsproblems, die sich den damaligen Untersuchern geradezu aufdrängte. An Bemühungen, die Geschwulstzellen zu differenzieren, in den Krebszellen etwas Spezifisches zu entdecken, hat es in der Folgezeit nicht gefehlt. Während aber die große Autorität Virchows dem Streite über die Heterologie der Krebszellen in Deutschland bald ein Ende machte, haben Forscher anderer Länder, besonders Lebert in Frankreich, an dieser Auffassung fest-

gehalten. Auch die moderne Krebsforschung bewegt sich zum Teil auf denselben Bahnen und arbeitet mit der gleichen Fragestellung, wenn sie sich unablässig bemüht, einen Krebsparasiten in der Form eines einzelligen Wesens, eines Protozoons zu entdecken.

Auch ich habe bei meinen Arbeiten über die Erschließung des Zellbildes bösartiger Geschwülste an die alte Fragestellung wieder angeknüpft und die Forderung erhoben, zunächst einmal das Zellenbild der bösartigen Geschwülste näher zu bestimmen, eine Aufgabe, die bisher daran gescheitert war, daß unsere bisherigen Methoden der Zellforschung noch zu unvollkommen waren, um ein erfolgreiches Arbeiten zu gewährleisten.

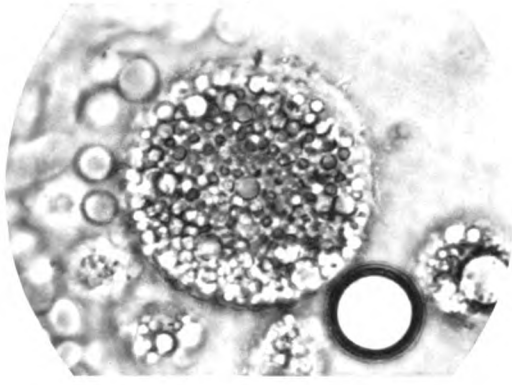
Ich habe dann eine Methode der Sichtbarmachung und Färbung lebendfrischer Zellen mitgeteilt, mit der es gelingt, die verschiedenen Arten der Geschwulstzellen mit ihren Einzelheiten ohne erhebliche äußere Schädigung dem Auge des Beobachters kenntlich zu machen. Wir sind nunmehr imstande, die einzelnen Zellarten zu bestimmen und und auseinanderzuhalten. Ich glaube, daß die von mir angegebene Vitalfärbung im Verein mit dem fixierten Ausstrich und dem Schnittpräparat einen Fortschritt der Untersuchungstechnik auf dem Gebiete der Zellforschung maligner Tumoren darstellt.

Bei diesen systematischen Untersuchungen konnte ich den Nachweis führen, daß im Krebsgewebe in der Tat ein Zelltypus in engster Symbiose mit den Epithelzellen vorkommt, den ich auf Grund seiner elektiven Färbung „blauweiße Zellen" genannt habe und die von den Epithelzellen scharf zu trennen sind. Für ihren spezifischen Charakter spricht, daß sie auch im experimentellen Mäusekrebs in großer Menge, und wie ich in der vorliegenden Arbeit gezeigt habe, auch im spontanen Mäusekarzinom regelmäßig und im gleichen Verhältnis zu den Epithelzellen angetroffen und jederzeit nachgewiesen werden können.

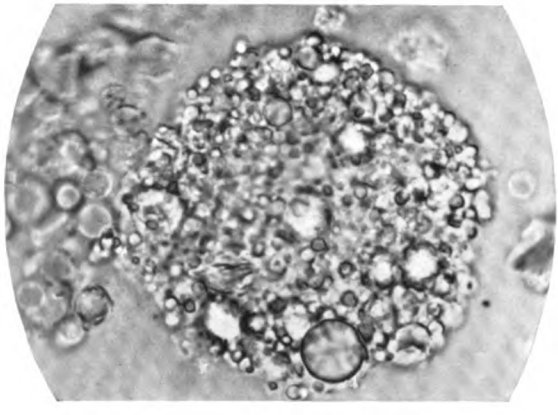
Handelt es sich bei den blauweißen Zellen des spontanen Mäusekrebses wirklich um eine artfremde, heterologe Zelle, dürfen wir sie als den Träger der Malignität ansprechen? Dafür lassen sich in der Tat sehr gewichtige Tatsachen anführen. Es würde zu weit führen, hier noch einmal die Gründe aufzuzählen, die zugunsten dieser Auffassung sprechen. Was ich in meinen früheren Arbeiten über die blauweißen Zellen des menschlichen und experimentellen Mäusekrebses und ihr parasitäres Verhalten gesagt habe, trifft auch für die des spontanen Mäusekrebses zu.

Es bliebe noch die Stellung und Bedeutung der vakuolär und granulär gebauten Zellen zu erörtern. Mit den blauweißen Zellen haben sie einiges gemeinsam, z. B. die Fähigkeit amöboider Bewegung. Der Aufbau der Zelle, das zierliche Wabenwerk ihres Zelleibes, ihr starkes Freßvermögen erinnert an eine Gattung niederster Lebewesen, an Amöben. Diese Annahme, so verführerisch sie auch auf den ersten Blick sein mag, läßt sich jedoch nicht aufrecht erhalten. Entscheidend sind die Kernverhältnisse; der Kern ist der einer Metazoenzelle. Dazu zeigen sie nirgends den Epithelzellen gegenüber ein parasitäres Verhalten; ihre Tätigkeit beschränkt sich lediglich auf die Wegschaffung überflüssigen und abgestorbenen Gewebsmaterials. Es sind also „Abräumzellen" oder große Phagozyten, die bei chronischen, entzündlichen Prozessen des menschlichen und tierischen Organismus mit Vorliebe aufzutreten pflegen. Sie sind also als dem Mäusorganismus homologe

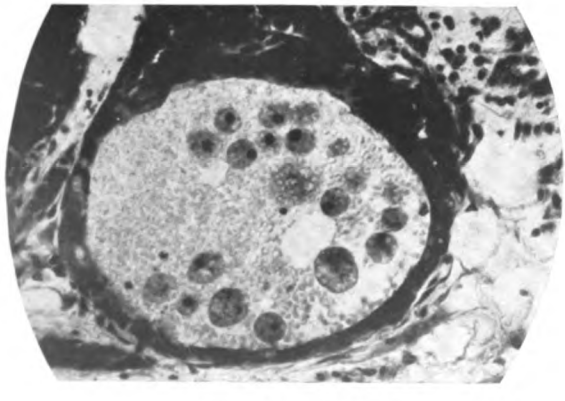
THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



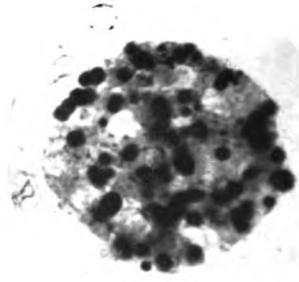
1



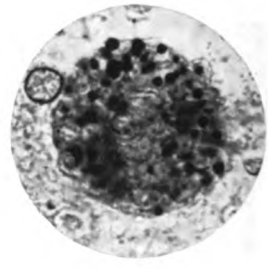
2



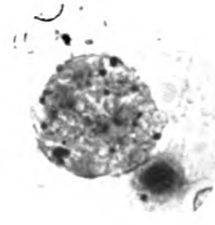
3



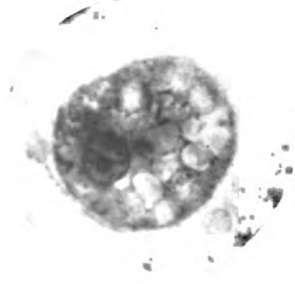
4



5



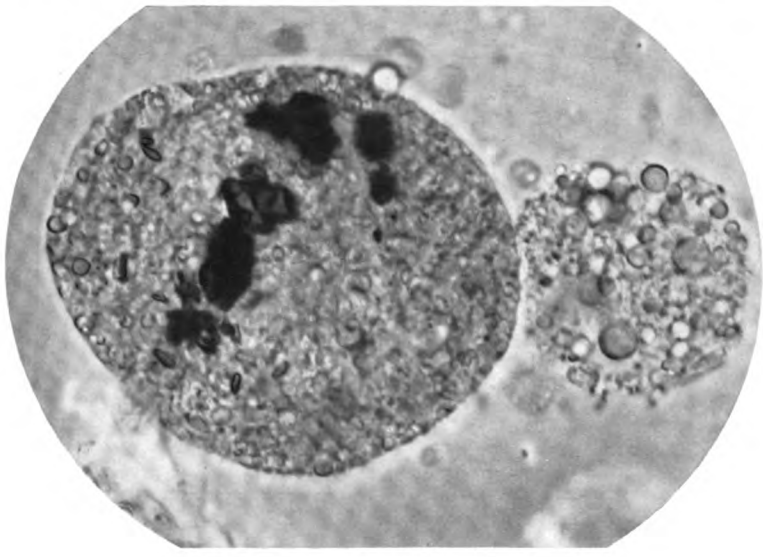
6



7

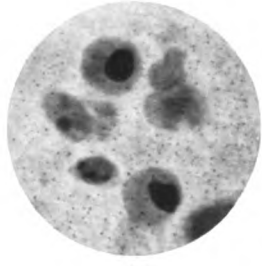
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
[illegible] ILLINOIS

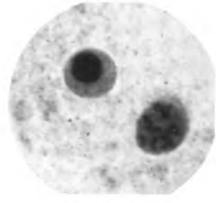


8

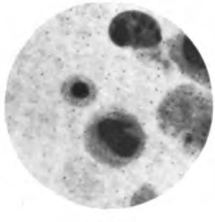
9



10

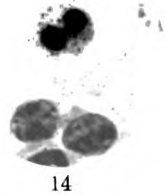


11



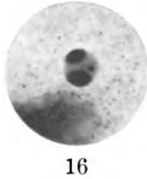
12

13

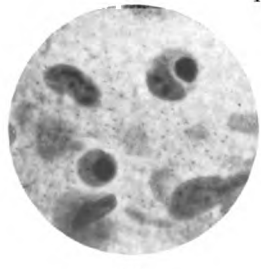


14

15



16



17

18

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Zellen anzusehen. Im menschlichen Krebs stoßen wir auf die gleiche Zellart: bei dem experimentellen Mäusekarzinom scheinen sie jedoch zu fehlen. In meinem Auftrage hat mein Mitarbeiter, Herr Dr. Fritz Hesse, in der Sitzung der mikrobiologischen Gesellschaft, Sitzung vom 15. März 1926, kurz darüber berichtet (siehe Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 82). In einer ausführlichen Arbeit werde ich auf diesen wichtigen und interessanten Typ des Zellbildes bösartiger menschlicher Geschwülste näher eingehen.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

Photogr. 1 u. 2. Spontanes Mäusekarzinom M. 8, große granulär gebaute Zellen im natürlichen Zustande, lebend photographiert. 1000fach.

Photogr. 4, 5, 6. Spontanes Mäusekarzinom M. 10, granulär gebaute Zellen von verschiedener Größe. Indophenolsynthese; die schwarzen Stellen und Punkte zeigen Fett an. Die Menge ist in den einzelnen Zellen verschieden. Nr. 4 enthält viel, Nr. 6 wenig Fett. 1000fach.

Photogr. 3. Spontanes Mäusekarzinom M. 8, Schnittpräparat Sublimat-Alkoholfixierung. Färbung mit Karbolthionin 24 Std. Cystischer Hohlraum im Krebsgewebe, enthält rote Blutkörperchen und zahlreiche vakuolär gebaute Zellen. 250fach.

Photogr. 7. Spontanes Mäusekarzinom, die größte Zelle vom Bild 3 mit deutlich vakuolärem Bau und typischem Kern. 1000fach.

Tafel II.

Photogr. 8. Spontanes Mäusekarzinom M. 11. Zwei große granuläre Zellen nach 24 Std. photographiert. Die größte enthält Hämatoidinkristalle.

Photogr. 9—18 stammen von Ausstrichpräparaten des spontanen Mäusekarzinoms M. 7.

Photogr. 9. Blauweiße Zelle mit rundem, kompaktem, randständigem Kern.

Photogr. 10. Zwei blauweiße Zellen, die eine mit rundlich ovalem, die andere mit unregelmäßig gestaltetem Kern.

Photogr. 11. Blauweiße Zelle neben einem Epithelkern, letzterer undeutlich, zeigt das Größenverhältnis beider Kerne.

Photogr. 12. Größere und kleinere blauweiße Zellen, außerdem ein Epithelkern.

Photogr. 13. Blauweiße Zelle mit eckig-verzogenem Kern.

Photogr. 14. Blauweiße Zelle mit zwei Kernen.

Photogr. 15. 16. Blauweiße Zellen mit verschieden großen Kernteilen, Teilungsformen.

Photogr. 17. Eine extra- und eine intrazellulär gelegene blauweiße Zelle.

Photogr. 18. Eine Zelle mit zwei intrazellulär gelegenen blauweißen Zellen. Die eine rundlich mit großem Kern und deutlich schmalem Protoplasmasaum, die andere länglich gestaltet mit spitz auslaufendem Zelleib. Kern der Wirtszelle etwas eingedellt.

Tafel III.

Zeichn. 1. Spontaner Mäusekrebs M. 25. Vitalfärbung mit Methylgrün-Pyronin. a) Blauweiße Zellen von verschiedener Gestalt und Größe aus dem hämorrhagisch erweichten Teil, dazu 3 rote Blutkörperchen. b) Einige blauweiße Zellen zusammenliegend aus solidem Krebsgewebe. c) Isolierte Epithelzellen aus dem hämorrhagisch erweichten Teil. d) Aus dem soliden Tumorgewebe 2 kleine blauweiße Zellen inmitten eines kleinen Epithelzellverbandes.

Zeiss-Apochromat 3 mm; Komp.-Okular 4.

Zeichn. 2. Spontaner Mäusekrebs M. 22. Vitalfärbung. — Blauweiße Zellen. — Aus dem Kern der Zelle a) tritt ein kleiner Kernteil aus, bei Zelle b) scheint sich der Kern in mehrere Teile geteilt zu haben, von denen 2 im Begriff sind, aus dem Zelleib auszutreten. Zelle c) mit 2 Kernen, d) kleine blauweiße Zelle mit unregelmäßiger Kernsubstanz, 2 rote Blutkörperchen als Vergleichsobjekt.

Zeiss-Apochromat 3 mm; Komp.-Okular 8.

Zeichn. 3. Blauweiße Zellen aus demselben Tumor. Zeigt die Kernverschiebung während einer 20 Min. langen Beobachtungszeit.

Gezeichnet bei derselben Vergrößerung wie vorher.

Zeichn. 4. Spontaner Mäusekrebs M. 7. Ausstrichpräparat vom Tumorgewebe; Flemming-Fixierung, Färbung mit Safranin-Lichtgrün zeigt extra- und intrazellulär gelegene blauweiße Zellen von verschiedener Größe und Gestalt. Epithelzellen mit hypertropischem Kern. In Epithelzelle a und b Kern durch die intrazellulär gelegene blauweiße Zelle schüsselförmig eingedrückt.

Zeiss-Apochromat 3 mm; Komp.-Okular 12.

Zeichn. 5. Spontaner Mäusekrebs M. 18. Große granuläre Zellen, nicht gefärbt, im natürlichen Zustand gezeichnet; Zelle a von Blutkörperchen umgeben, Zelle b und c lassen noch erhaltene Blutkörperchen im Innern der Zelle deutlich erkennen. Zelle d mit homogenem Protoplasma und e mit lappigen Pseudopodien; gezeichnet nach einem hängenden Tropfenpräparat auf dem heizbaren Objekttisch. Zelle a Leitz-Komp.-Okular 4. Die übrigen mit Zeiss-Apochromat 3 mm; Komp.-Okular 8.

Zeichn. 6. Spontaner Mäusekrebs M. 1. Ausstrichspräparat zeigt 5 große vakuolär gebaute Zellen. a) Die mittleren mit 2 Kernen und einer phagozytierten blauweißen Zelle, deren Kern intensiv rot gefärbt, während das Protoplasma durch eine helle Zone noch erkennbar ist. Der Kern zweier Zellen ist länglich verzogen. Die 2 Zellen b ohne Inhalt zeigen das zierliche Wabenwerk des Zelleibes. Giemsa-Färbung.

Zeiss-Apochromat 3 mm; Komp.-Okular 4.

Sämtliche Bilder — mit Ausnahme von No. 6 — sind von Herrn Maler Landsberg gezeichnet.

Die Mikrophotogramme verdanke ich meinem Mitarbeiter Herrn Prof. Dr. Zettnow, dem ich an dieser Stelle nochmals wärmstens danke.

Nachdruck verboten.

Ueber Nematoden aus Grassamen und ihre Bedeutung für die Entwicklung der Lungenwürmer.

Bemerkungen zu v. Schuckmanns Miteilungen in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft. Sitzung vom 18. Januar 1926.

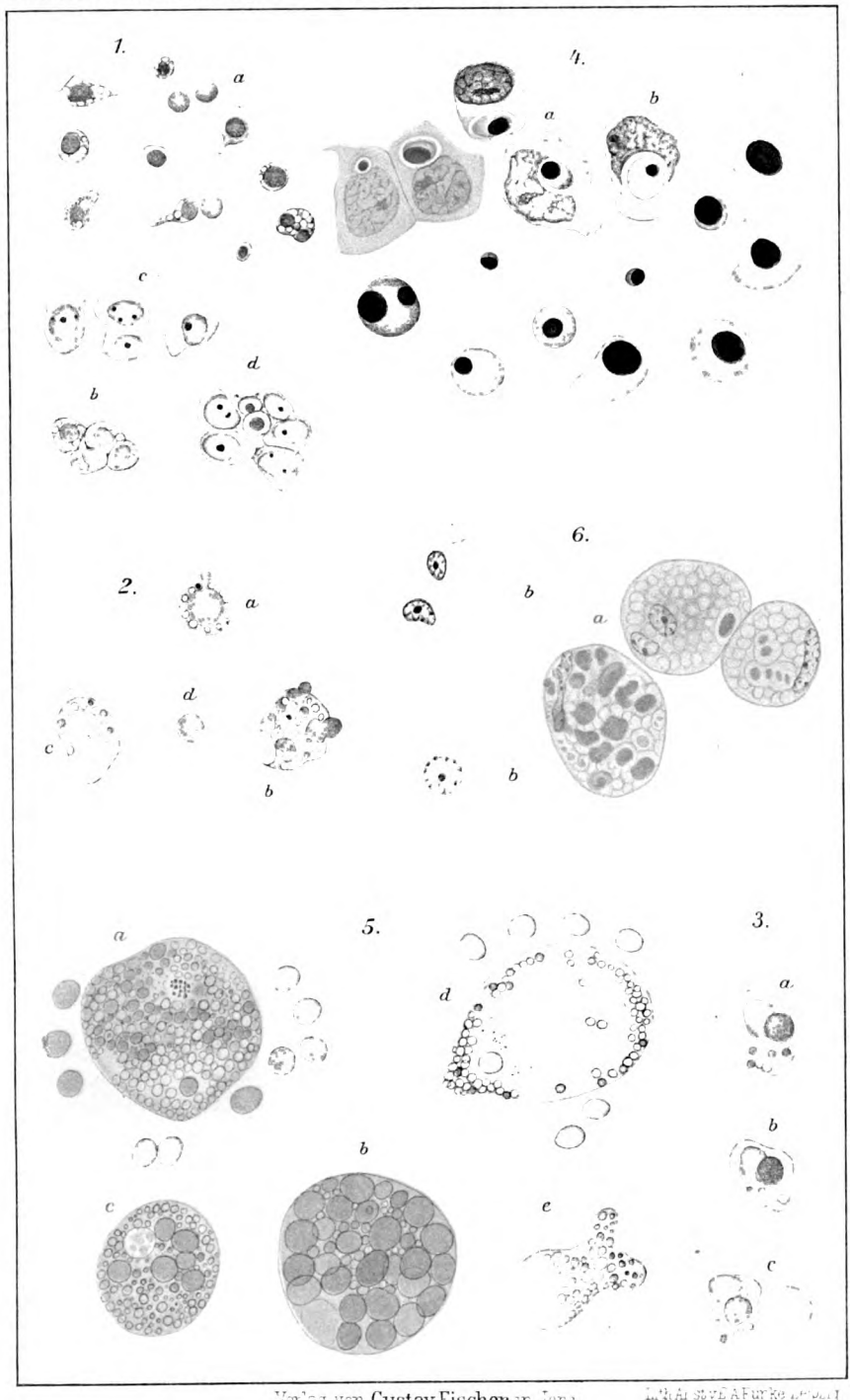
(Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 81. 1926. S. 479.)

Von Prof. Dr. Gräfin **v. Linden**, Bonn.

v. Schuckmann wirft in seiner obigen zitierten Mitteilung in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft die Frage auf, ob die in meiner Arbeit: „Untersuchung über die Entwicklung der freilebenden Generation der Lungenwürmer“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. H. 2/3) beschriebene freilebende Stadien der Lungenwürmer (Str. filaria, micrurus, paradoxus, commutatus, capillaris), nicht am Ende an dem Grassamen haftende und mit diesem eingeschleppte freilebende, in keiner Beziehung zu den parasitischen Würmern stehende Nematoden gewesen seien.

Ich will ganz kurz die Gründe anführen, die die v. Schuckmannsche Auffassung als unhaltbar erweisen.

1) Die ersten Entwicklungen der freilebenden Generationen unserer Würmer erhielten wir auf steriler Erde, in die Watte oder extra gezogene sorgfältig vorher ausgewaschene auf Wurmfreiheit geprüfte Graspflänzchen eingepflanzt worden waren. Das Ansäen der Kulturen mit Grassamen wurde erst später zur Vereinfachung ausgeführt. — 2) Die mit demselben Grassamen besäten paralell Kontrollkulturen wurden während der ganzen Zeit beobachtet und nicht nur während 5—6 Wochen wie v. Schuckmann



Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. E. Furke, Leipzig

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

vermutet, und blieben frei von Würmern. — 3) Die aus der Lunge der verschiedenen Tieren entnommenen Lungenwurmembryonen gehörten verschiedenen Strongylus-Arten an und waren sowohl als Embryonen von einander verschieden, wie auch später als Larven und freilebende Generationen. Bestimmte Grassamennematoden hatten diese Unterschiede nicht gezeigt. — 4) Die auf steriler Erde erzielten Wurmgenerationen entsprachen vollkommen denjenigen, die man aus den Fäces an Lungenwurmseuche erkrankter Tiere erhält, wie sie von uns beobachtet worden sind und wie sie auch von Richters beschrieben wurden: Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere: „Ueber die Entwicklung von Dictyocaulaus (Strongylus, filaria Rud. beim Schaf". — Es wäre zu untersuchen, ob der von v. Schuckmann sich als nematodenhaltige Grassamen nicht auf Boden gezogen wurde, der mit Lungenwürmern infiziert war, da es sich um verschleppte Lungenwürmer handeln könnte. Die Lösung dieser Frage wäre für die Aetiologie der Lungenwurmseuche von allergrößtem Interesse.

Nachdruck verboten.

Zur Diagnose der Trematodengattung Tanaisia Scrj., 1924.

[Aus dem Helmintholog. Laborat. des Staatsinstitutes für experiment. Veterinarie zu Moskau (Leiter: Prof. Dr. K. J. Scrjabin).]

Von Veterinärarzt **J. M. Issaitschikow.**

Prof. Dr. K. J. Scrjabin hat in einer seiner letzten Arbeiten über „Nierentrematoden der Vögel Rußlands" im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1924. S. 84—86 einen neuen Nierenparasiten der Wasservögel, die Tanaisia fedtschenkoi, beschrieben aus Russisch-Turkestan, Buchara, Turgai und dem Dongebiete.

Jetzt, im Jahre 1925, bei der Bearbeitung der 27. Helminthologischen Expedition S.S.S.R. (der 2. westsibirischen), geleitet von J. M. Issaitschikow, gelang es uns, die T. fedtschenkoi in den Nieren von Chroicocephalus (= Larus) ridibundus sibiricus But. in 25 Exemplaren bei der Stadt Omsk zu entdecken. Die Maße der von uns gefundenen Exemplare dieses Parasiten unterscheiden sich im allgemeinen von dem der von Prof. K. J. Scrjabin untersuchten Exemplare gar nicht. Die von uns gesammelten T. fedtschenkoi sind 3,6126 mm lang und maximal 0,7776—0,8910 mm breit; im übrigen aber ganz identisch mit den Exemplaren von Prof. K. J. Scrjabin.

Bei der Untersuchung gut gefärbter Präparate der uns zur Verfügung stehenden Parasiten gelang es uns, folgende sehr interessante Besonderheit, im Darmtraktbau zu entdecken: Der Darmschenkel der Trematode scheint sich im Hinterteile des Körpers zueinander umzubiegen und miteinander im Bogen zusammenzufließen, deren hinteres Ende bei Exemplaren von 4,4350 mm Länge vom Hinterteile des Parasitenkörpers 0,28727 mm absteht. Der Darmtrakt von T. fedtschenkoi bildet demnach einen völlig geschlossenen Bogen, wie bei den Vertretern der Familie der Cyclocoellidae Kossack, bei den Würmern vom

Genus Macia bis zur Familie der Gorgoderidae und bei der Trematode Tamerlania zarudnyi Scrj. 1924.

Prof. K. J. Scrjabin hat diese Eigenschaft in seinen Präparaten von T. fedtschenkoi nicht beobachtet und spricht auch in seiner Arbeit nicht davon, daß die Hoden und der Keimstock dieser Trematode nicht nur gelappt, sondern auch ganzrandig sein können.

Wegen dieser Besonderheiten im Darme, den Hoden und dem Keimstock ist die Genusdiagnose der Tanaisia dementsprechend folgendermaßen zu ergänzen, desgleichen die von Tanaisia fedtschenkoi: Mittelgroße Eucotylidae mit verlängertem Körper, dessen Kopfteil keinen kappenartigen Muskelwulst besitzt, und allmählich mit dem Körper zusammenfließt. Die Darmschenkel vereinigen sich im Hinterteile des Körpers in einem Bogen. Hoden, stark gelappt oder ganzrandig, liegen median den Darmschenkeln schräg zueinander im 2. Drittel der Körperlänge. Keimstock entweder stark gelappt oder ganzrandig; Dotterstöcke im 2. Drittel der Körperlänge. Vorkommen: in Nieren von Wasservögeln. Einzige Art: T. fedtschenkoi Scrj. (1924).

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. K. J. Scrjabin für seine liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Moskau, Dezember 1925.

Nachdruck verboten.

Ambozeptoren.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie (Direktor: Prof. C. Neuberg).]

Von **Felix Klopstock.**

Mit dem Begriff des Komplements, den ich an verschiedenen Stellen[1]) erörtert habe, ist der Begriff Ambozeptor eng verbunden. Ambozeptoren sind nach der noch heute geltenden Anschauung normale oder immunisatorisch gebildete Antikörper des Blutserums, welche mit zwei haptophoren Gruppen, der zytophilen und der komplementophilen Gruppe ausgestattet sind, und die Wirkung der Komplemente auf das zugehörige Antigen zu vermitteln imstande sind.

Ein Verzicht auf die alten Vorstellungen von dem Wesen des Komplements macht auch eine Neuorientierung für den Begriff des Ambozeptors notwendig. Ich hoffe zeigen zu können, daß mit der von mir übermittelten Auffassung des Komplements: „die Komplementwirkung ist nicht an einen chemisch greifbaren und isolierbaren Körper geknüpft, sondern an eine kolloidale Zustandsform gebunden" auch der Begriff des Ambozeptors eine Klärung erfährt, und eine Gruppe von Reaktionsprodukten des menschlichen oder tierischen Körpers in ihrer Stellung unter den Immunitätsphänomenen unserem Verständnis näher gebracht wird.

I. Die 1. Gruppe der sogenannten Ambozeptoren stellen die lytischen Ambozeptoren, die Hämolysine und Bakteriolysine dar. Es sind, wie ich

1) Zuletzt Centralbl. f. Bakt. Bd. 98. H. 1/2.

bereits an anderer Stelle[1]) ausgeführt habe, Fermente, die einen kolloiden Träger mit amphoterer Ladung besitzen, und mit einer spezifischen Affinität zu dem homologen Antigen ausgestattet sind. Sie bedürfen zu ihrer Aktivierung nicht nur einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration, sondern eines kolloidalen Systems mit einer bestimmten Teilchengröße, Sinn und Stärke der elektrischen Ladung der Teilchen, Oberflächenspannung, Viskosität usw. (Komplement).

Für die Abhängigkeit der Fermentwirkungen von einem kolloiden Zustand sind ja zahlreiche Beispiele bekannt: Dialysiert[2]) man Blutplasma, bzw. Serum, das proteolytische Fermente enthält, gegen destilliertes Wasser, dann nimmt seine Aktivität bald ab; wählt man als Außenflüssigkeit isotonische Kochsalzlösung, dann bleibt die Abschwächung der Fermentwirkung aus. Im ersteren Falle bewirkt offenbar die Abnahme der Neutralsalze, die durch die Dialyse gegen Wasser erfolgt, daß Zustandsänderungen der kolloiden Teilchen des Dialysierinhalts erfolgen. — Wird aktiver Leberpreßsaft gegen Wasser dialysiert, so verliert er allmählich seine Fähigkeit, Fette zu spalten. Wird das Dialysat zum nichtdialysablen Teil des Leberextraktes hinzugefügt, dann wirkt die Lipase wieder. Der Stoff, der imstande ist, die inaktiv gewordene Lipase in den aktiven Zustand zurückzuführen oder vielleicht die Lipase zum wirksamen Prinzip zu ergänzen, ist kochbeständig. — Wird Hefepreßsaft dialysiert, dann erweist sich sowohl der Inhalt des Dialysators, als auch die dialysierte Flüssigkeit als unwirksam. Mischt man beide, dann tritt Spaltung der Glukose ein. — Das Pepsin wird durch Salzsäure aktiviert, die Lipase des Pankreas durch Gallensäuren. — Das Sekret des Pankreas (ich komme hiermit zu einem Beispiel eines Aktivierungsprozesses, der wiederholt mit dem Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement verglichen worden ist) ist an sich unwirksam auf genuine Eiweißkörper; zu seiner Aktivierung bedarf es eines Agens; das im Pankreas fehlt, und dem Pankreassaft erst durch Berührung mit dem Darmsaft zugeführt wird, der Enterokinase. Der Mechanismus der Aktivierung ist auch heute noch strittig. Während die einen Forscher der Meinung sind, daß sich eine Verbindung von Koferment und Zymase bildet, glauben andere an die Beseitigung eines mit dem Trypsinogen verkuppelten Hemmungskörpers und wieder andere, daß die Enterokinase ein Ferment darstellt, welches durch katalytische Veränderung des Trypsinogens einen ganz neuen Körper, die Tryptase, erzeugt. — Der Ablauf des Gerinnungsprozesses, ein weiteres Beispiel von dem Zusammenwirken mehrerer Faktoren, steht ja erneut zur Diskussion. Nach der klassischen Blutgerinnungslehre kommt die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin durch das Zusammenwirken des Thrombins und der Thrombokinase in Gegenwart von Kalksalzen zustande. Nach Wöhlisch entsteht das Thrombin durch Zusammenwirken von Prothrombin, Thrombozym und Kalziumionen; Abgabe von Zellprodukten vermag diesen Vorgang außerordentlich zu beschleunigen (Thrombokinase). Das Thrombin bewirkt eine Entladung und Entquellung der fibrinogenen Ultramikronen, die sich daraufhin zusammenlagern und die Gerinnung (? nach Pfeiffer) in Erscheinung treten lassen. Stuber[3]) dagegen sieht in der Thrombinwirkung einen reinen Quellungsprozeß, wodurch dem Fibrinogen sein Lösungsmittel entzogen wird und die Gerinnung erfolgt. Die Wirkung der Thrombokinase beruht nach ihm in erster Linie auf den in ihr enthaltenen oberflächenaktiven Substanzen; in zweiter Linie ist sie an eine bestimmte optimale H-Ionenkonzentration gebunden. Stuber sieht das Wesen der Thrombokinase wie ich des Komplements in rein physikalisch-chemischen Faktoren begründet. Der Kalk stellt nach ihm keinen notwendigen Faktor für die Blutgerinnung dar. —

Es handelt sich sicherlich bei der Aktivierung der Fermente durch Kofermente oder Kinasen nicht etwa um einen einheitlichen Vorgang; die Beziehungen können, wie aus diesen Beispielen hervorgeht, vielfache sein. Ich sehe jedenfalls keinen Anhaltspunkt dafür, daß sich bei der Aktivierung der Hämolysine oder Bakteriolysine durch aktives Serum Verbindungen zwischen den Lysinen und Bestandteilen der Blutflüssigkeit bilden! Einmal verhält sich der Bedarf an Lysinen und Komplement umgekehrt proportional; je konzentrierter das Hämolysin, desto geringer die Kom-

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 15.
2) Vgl. Abderhalden, Physiol. Chemie.
3) Biochem. Zeitschr. 1922, 1923, 1924.

plementmenge, die zu seiner Aktivierung notwendig ist! — Dann ist es, wie ich immer wieder gezeigt habe, ein kolloidales System, nicht irgendeine chemische Substanz, die zur Aktivierung erforderlich ist! — Niemals hat sich ferner ein aus drei Bestandteilen bestehendes Aggregat (Antigen-Antikörper-Komplement) nachweisen lassen! — Weiter ist, wie bereits Liefmann und Cohn[1]) gezeigt haben, das Komplement nach dem Einsetzen der Hämolyse fast noch unversehrt nachweisbar; Untersuchungen, die in kurzen Abständen nach dem Eintritt der Hämolyse angestellt werden, ergeben erst seinen allmählichen Untergang. — Schließlich ist es ja unmöglich, ein Hämolysin durch Zusatz von Komplement für die Dauer zu aktivieren; die Lysine bedürfen des aktiven Serums im Momente der Wirkung.

II. Die zweite Gruppe der Ambozeptoren — sie ist nicht etwa von der ersten grundsätzlich verschieden, beide Gruppen gehen ineinander über — wird durch Antikörper gebildet, welche auf Grund chemischer Affinitäten mit ihrem zugehörigen Antigen zur relativ großen in kolloidalem Lösungszustand verbleibenden Komplexen zusammentreten und hierbei den kolloiden Zustand des aktiven Serums so zu alterieren vermögen, daß eine Aufhebung der Komplementfunktion erfolgt. Die Ambozeptornatur eines Antikörpers ist also nicht etwa in einem besonderen Bau, in einer komplementophilen Gruppe begründet! Ein Antikörper erscheint dann als Ambozeptor, wenn einmal sein Aggregat mit dem zugehörigen Antigen eine gewisse Teilchengröße überschreitet und zweitens im kolloiden Lösungszustande verharrt, d. h. Träger einer elektrischen Ladung bleibt. Teilchen von der Größe des Kollargols oder des bakteriophagen Lysins sind auch in starker Konzentration in das aktive Serum eingeführt, nicht imstande, die Komplementwirkung aufzuheben, d. h. das kolloidale System des Serums so zu verändern, daß die Komplementwirkung vernichtet wird; die hochdispersen Farbstoffe (z. B. Methylenblau) vermögen erst in erheblicher Konzentration Serum zu inaktivieren; niedrig disperse Farbstoffe (Nachtblau und insbesondere Kongorot) zerstören die Komplementfunktion noch in sehr verdünntem Zustande. Teilchen, die infolge des Elektrolytgehaltes des Serums zur Ausfällung kommen, beeinflussen die Komplementwirkung nicht. Neutralrot, das in physiologischer Kochsalzlösung ausfällt, ist nicht imstande, Serum zu inaktivieren. Eine Serumverdünnung, die mit Osmosil (kolloidale Kieselsäure) versetzt wird, gewinnt mit dem allmählichen Ausfall des Osmosils ihre Komplementwirkung wieder.

Wird das Verhältnis von Antigen, Antikörper und Elektrolytkonzentration im Reagenzglas so gewählt, daß die Antigen-Antikörperteilchen sich gegenseitig entladen, so erscheint das Phänomen der Präzipitation. Derselbe Antikörper kann, je nachdem er im Aggregat mit seinem Antigen kolloidal gelöst bleibt oder ausflockt, zum Ambozeptor oder zum Präzipitin werden.

Ueber das Verhältnis von Ambozeptorwirkung und Präzipitation liegt ja eine ausgedehnte ältere Literatur vor. Neißer und Sachs konnten zeigen, daß zwischen Komplementbindung und Präzipitation nicht immer ein direkt proportionales Verhältnis besteht. Friedberger beobachtete noch Komplementbindung bei geeignetem Antiserum mit so minimalen Antigenmengen, daß an eine Präzipitationsbildung nicht mehr gedacht werden konnte. Händel und Steffenhagen berichteten über Anti-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 8. 1911.

sera, welche bei starkem Präzipitationsvermögen nur geringe Komplementbindung ergaben. Muir und Martin haben Versuche mitgeteilt, nach denen bei der Immunisierung mit fremdartigem Eiweiß komplementbindende Antikörper früher nachweisbar sind, als Präzipitine. Wassermann und Bruck konnten zeigen, daß Bakterienextrakte beim Lagern die Fähigkeit der Präzipitabilität verlieren, während die komplementbindenden Funktionen quantitativ erhalten bleiben. Friedberger und auch Liefmann wiesen dagegen nach, daß Antisera durch Erhitzen die präzipitierende Wirkung, nicht aber die komplementbindende Funktion verlieren.

Es ist also nicht etwa so, daß jeder Antikörper durch Komplementbindung und Präzipitation nachgewiesen, und stets bei gleichem Antigen und Antigenkörper das Phänomen der Komplementbindung oder der Präzipitation entweder durch einen Wechsel in der quantitativen Einstellung des Antigens zum Antikörper oder durch eine Veränderung der Elektrolytkonzentration ausgelöst werden kann. Bei den Reaktionen auf Syphilis nach Meinicke und Sachs-Georgi wird jedenfalls derselbe Serumbestandteil, der auch die Wassermannsche Reaktion bedingt, durch Veränderung des Antigens und der Elektrolytkonzentration mittels Flockung nachgewiesen.

Eine besondere Rolle kommt dem Lipoidgehalt eines spezifischen Antigens bei der Komplementbindungsprobe zu. Die Lipoide vermögen durch Kuppelung mit einem spezifischen Antigen die Reaktionsbreite der Komplementbindungsprobe zu vermehren, d. h. Antikörper noch als Ambozeptoren erscheinen zu lassen, die bei einer Aggregatbildung mit einem nichtgekuppelten Antigen nicht als Ambozeptoren imponieren. v. Wassermann konnte zeigen, daß bei Verwendung eines vollkommen entfetteten Tuberkelbazillenantigens nur bei einem sehr reichlichen Antikörpergehalt die Komplementbindungsprobe positiv ausfällt, daß aber bei Beladung des Antigens mit einem unspezifischen Lipoid eine weit größere Zahl von Tuberkulosefällen durch die Komplementbindungsprobe erfaßt werden kann: Erst die Vereinigung des spezifischen Antigens mit dem unspezifischen Lipoid führt bei dem Zusammentreffen mit dem spezifischen Antikörper zu Komplexen von jener Teilchengröße und Ladung usw., welche eine Inaktivierung des Serums zur Folge haben, und läßt Antikörper die Eigenschaften eines Ambozeptors annehmen, die anderenfalls nicht als Ambozeptoren in Erscheinung treten würden. Ich selbst habe für die Komplementbindungsprobe bei Tuberkulose mit dem Wassermannschen Antigen zeigen können, daß nicht etwa eine mit dem Lezithin reagierende Komponente des Serums vorhanden ist, sondern das Lipoid die Rolle des Verstärkers oder Sensibilisators spielen kann.

Mit dieser Auffassung der Ambozeptoren findet auch das Phänomen von Neisser und Wechsberg seine Erklärung, daß bei Versuchen im Reagenzglase ein Überschuß von inaktiviertem Immunserum bei Vorhandensein einer für die Auflösung einer konstanten Bakterienmenge nötigen Komplementmenge imstande ist, die bakterienvernichtende Wirkung der Mischung zu schwächen oder ganz aufzuheben. Nach Neisser und Wechsberg soll der Überschuß von Ambozeptoren, der nicht an die Bakterien zur Verankerung kommt, eine höhere Avidität zu den Komplementen besitzen und diese den bereits an die Bakterien verankerten Ambozeptoren wegschnappen, so daß die auflösende Wirkung ausbleiben muß. Von anderer Seite (Gruber) ist die Erscheinung auf Antikomplemente bezogen worden, welche beim Immunisierungsprozeß entstehen und sich beim Zusatz großer Dosen von Immunserum geltend machen. Nach den hier vorgetragenen Anschauungen ist das Phänomen dadurch begründet, daß durch das Entstehen zahlreicher Antigen-Antikörperkomplexe der kolloidale Lösungszustand so verändert wird, daß die Komplementwirkung schwindet; erst mit der Verdünnung des Immunserums kann die Komplementfunktion des aktiven Serums zustande kommen.

Das Phänomen von Neisser und Wechsberg hat die gleiche Ursache, wie die sogenannte Komplementablenkung bei der Komplementbindungsprobe überhaupt. Durch die Antigen-Antikörperaggregate wird der kolloidale Zustand des aktiven Serums so alteriert, daß das spezifische Hämolysin seine lytischen Eigenschaften nicht mehr zu entfalten vermag.

Die hier vorliegende Bemerkung hat jedoch folgenden Zweck. Zum Unterschied von Klopstock, der mit Meerschweinchenkomplement arbeitet, arbeiteten wir mit Menschenkomplement und kamen auf folgende Abweichungen:

1) Menschenkomplement wird bloß im Hirudinplasma gut erhalten, während es durch Natriumzitrat und Oxalat stark geschädigt wird. — 2) Unter bestimmten Bedingungen, die wir zurzeit studieren, geht es selbst im Hirudinplasma sehr rasch zugrunde; manchmal schon in wenigen Stunden. Es scheint das hauptsächlich durch der Blutentnahme vorausgehende Muskelarbeit verursacht zu sein, oder dadurch, daß die Blutentnahme während der Verdauungszeit vorgenommen wurde, vielleicht auch durch verschiedene Unregelmäßigkeiten in der Lebensweise. Teilweise Gerinnung des Plasmas hat jedoch keinen irgendwie besonders schädigenden Einfluß auf das Komplement.

Literatur.

Kabelík, Biol. Listy. Vol. 11. 1925. p. 236. — Gellner, Seuchenbekämpfung. Bd. 2. 1925. H. 5. — Tomčik u. Vignati, Cas čes. lék. 1925. H. 40. — Vignati, Ibid. 1920. p. 898. — Kabelík, Bratislavské listy lékařské 1926. H. 1. — Ders., Gellner u. Tomčik, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 94. 1926. p. 209. — Vignati, Ceská dermatologie. [Im Druck.] — Gellner, Vojenské zdrav. listy. [Im Druck.]

Berichtigungen zum Aufsatz von Dr. S. S. Sabolotnyï „Zur Serotherapie des Milzbrandes“ in Bd. 99. Heft 1/3 dieser Zeitschrift:

1) S. 53, Zeile 3 lies statt: „Schavo“ richtig „Sclavo“, — 2) S. 55, Zeile 37 von oben statt: „sowohl der Aussaat“ richtig: „sowohl bei der Aussaat“, — 3) S. 57, Anmerkung; statt: „war es immer teigartig, federnd-elastisch“ richtig: „war es nie teigartig, sondern elastisch-federnd“, — 4) S. 60, Zeile 17 von oben statt: „3,5 Proz.“ „23,5 Proz.“, — 5) S. 61, Zeile 15 von oben statt: „(3/6 Respirationen)“ „(46 Respirationen)“.

Inhalt.

Gutstein, M., Das Ektoplasma der Bakterien. 5. Mitteilung: Färberischer Nachweis und chemischer Bau des Ektoplasmas der gramnegativen Bakterien. Mit 1 Tafel, S. 1.

Heim, Ludwig, u. **Schlirf, Karl**, Was ist es mit der Einheit der Streptokokken? Eine zeitgemäße Frage. Mit 2 Taf., S. 24.

Isabolinsky, M., u. **Tschernischoff, S.**, Zur Frage der Serumtherapie des Scharlachs, S. 21.

Issaitschikow, J. M., Zur Diagnose der Trematodengattung Tanaisia Scrj., 1924, S. 89.

Kabelík, J., Bemerkungen zu Klopstocks Artikel: „Ueber die Komplementwirkung des Blutplasmas“ (in diesem Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 98. S. 100), S. 95.

Klopstock, Felix, Ambozeptoren, S. 90.

Koch, Jos., Untersuchungen über das Zellenbild des spontanen Mäusekrebses, mit Bemerknngen über die Entstehung des Krebses. III. Mit 3 Tafeln, S. 75.

Linden, Gräfin v., Ueber Nematoden aus Grassamen und ihre Bedeutung für die Entwicklung der Lungenwürmer. Bemerkungen zu v. Schuckmanns Mitteilungen in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft. Sitzung vom 18. Jan. 1926. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 81. 1926. S. 479), S. 88.

Mayer, Georg, Einfacher Tuberkelbazillennachweis, S. 10.

Rudolf, Johann, Ueber das Verhalten verschiedener tierischer Streptokokken in Lackmusmilch unter besonderer Berücksichtigung des Streptococcus mastitidis und Streptococcus lacticus. Mit 1 Tafel, S. 47.

Sonnenschein, Curt, Atypische Wuchsformen von Bakterien als Krankheitserreger. Mucosus-Form von B. paratyphi im Blut eines Paratyphuskranken. Mit 1 Tafel, S. 11.

Van Loghem, J. J., Bakteriophage und hämolytisches Endotoxin des Cholera-Vibrio, S. 19.

Went, Stefan, Ueber Morphologie, Biologie und pathologische Bedeutung des sog. „Enterokokkus“, S. 62.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5520.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 100. Heft 4/6.

Ausgegeben am 30. Oktober 1926.

Nachdruck verboten.

Vitaminsubstanz oder Vitaminwirkung?

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Dir. Prof. Dr. Prausnitz).]

Von Priv.-Doz. Dr. **Werner Kollath,**
Assistenten am Institut.

Mit 3 Abbildungen im Text und 6 Tafeln.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Vorwort 98
1. Teil: Der X-Faktor 99
A. Ueber unsere bisherigen Kenntnisse der Biologie des Bacillus influencae Pfeiffer 99
(Nährbodenbedürfnisse; X- und V-Faktor; Trennung der Faktoren S. 99. Ammenwachstum S. 100. Beimpfungstechnik S. 101.)
B. Ueber Mineral-, insbesondere Eisenstoffwechsel 103
(Licht als Aktivator für Eisensalze S. 103. Benzidinreaktion S. 103. Aktivierung des Ferrocyankaliums S. 103. Anorganisches Vitamin? S. 104. Eisen als Katalysator S. 104. Eisen als Sensibilisator S. 104.)
C. Allgemeine Angaben über ultraviolettes Licht 106
(Physikalische Angaben S. 106. Physiologische Wirkung S. 107. UVS und Blut S. 108. UVS und Blutfermente S. 108. Strahlenhämolyse S. 108. UVS und Stoffwechsel S. 109.)
D. Einfluß von Sensibilisatoren 110
(Sensibilisierende Farbstoffe S. 110. Sensibilisierende Mineralien S. 110.)
E. Eigene Versuche 111
(Technische Vorbemerkung S. 111.)
Ueber den Einfluß des UVL auf die wachstumsfördernden Eigenschaften des Blutes 112
Ueber den Einfluß des UVL auf Hämoglobin Merck 113
Bestrahlung eines Gemisches von Serum und Blutkörperchen S. 114.
F. Versuche mit Ferrocyankalium und Manganchlorür 116
(Zur Benzidinreaktion des Ferrocyankaliums S. 116. Manganchlorür S. 119.)
G. Versuche über das Wesen der Umänderung des Ferrocyankaliums durch UVS 120
(Chemische Reaktionen des bestrahlten Ferrocyankaliums S. 120. Vorläufige Zusammenfassung S. 122.)
2. Teil: Der V-Faktor.
H. Ueber Phosphatide und ihren Einfluß auf das IB-Wachstum . . . 122
(Wasserlösliche Phosphatide S. 122. Arbeiten von Hansteen Cranner S. 123fg.)
I. Neuere Anschauungen über Avitaminosen, in Zusammenhang mit dem Einfluß des UVLs auf diese 126
K. Ueber Lezithin 128
L. Eigene Versuche 129
(Lezithin und Ammenwachstum S. 129fg. Ueber die Wirkungsweise des Lezithins S. 131. Versuche mit der photographischen Platte S. 132. Aldehydnachweis S. 133. Einwirkung von Acrolein auf Blutlösungen S. 135. Versuche mit Ferrocyankalium und Acrolein S. 135. Acrolein und Ammenwachstum S. 136.)
M. Versuche einer Zusammenfassung der Ergebnisse, um das Wesen der Wirkung des wachstumsfördernden Vitamins zu erklären . . . 137

Zusammenfassung der Ergebnisse 138
Literaturverzeichnis 141
(Zu dieser Arbeit gehören 6 Tafeln mit 22 Mikrophotogrammen und 3 Abbildungen im Text.)

Vorwort.

In dieser Arbeit ist der Versuch gemacht, die neuen Ergebnisse der Vitaminforschung bezüglich des Einflusses des ultravioletten Lichts (UVL.) auch auf das bakterienwachstumsfördernde Vitamin auszudehnen. Von vornherein war eine Zweiteilung der Arbeit gegeben; denn wir haben bekanntlich bei den Bedürfnissen des Influenzabazillus (IB.), der vorzugsweise als Studienobjekt für die Fragen verwendet wird, zwei wachstumsnotwendige Substanzen, die seit ihrer Auffindung nach dem Vorschlag von Thjötta und Avery als X- und V-Faktor bezeichnet werden. Der V-Faktor hat vitaminähnliche Eigenschaften, seine chemische Natur ist bisher unbekannt. Vom X-Faktor konnte ich beweisen, daß er einer Eisenverbindung entspricht, die aus komplexen Eisensalzen durch Bakterientätigkeit entstehen kann, und daß dieses Eisen direkt in den Körper der IB. aufgenommen wird.

Da somit die Möglichkeit, den X-Faktor genauer zu definieren, eher gegeben war, habe ich mich zunächst mit Versuchen in dieser Richtung beschäftigt. Dabei dehnte ich meine eigenen früheren Versuche dadurch aus, daß ich die Ergebnisse von Neuberg, Baudisch und Welo über die Rolle des Lichtes auf Eisenverbindungen für die vorliegenden Fragen anwendete. Namentlich die Angaben von Baudisch und Welo, daß durch Belichtung von Ferrocyankalium ein „anorganisches Vitamin" entstehen solle, bedurften unbedingt der genauen Untersuchung. Die beim Blut und Eisen gefundenen Verhältnisse sind dann auf das Mangan angewendet. Es ließ sich dabei mit Sicherheit zeigen, daß zwar ein O-aktives Eisen, bzw. Mangan, entstand, daß aber die Belichtung nicht für sich ausreichte, um eine Vitaminwirkung des Eisens zu erreichen. Und so wurden Versuche notwendig über das Wesen des V-Faktors.

Richtunggebend für diese Versuche wurden die neueren Arbeiten über den Einfluß des UVL. auf die Rachitis (Heß, Steenbock, György, Beumer u. a.), durch die bewiesen ist, daß bestrahlte Nahrungsmittel, aber auch bestrahltes Cholesterin, antirachitische Eigenschaften gewinnen können. Mit dem Nachweis des Cholesterins ist die Frage der Vitamine insoweit gefördert, als damit ein chemisch faßbarer Körper aus der Gruppe der Lipoide zu diesen Problemen in Beziehung gebracht wurde. In meinen eigenen früheren Versuchen ist es mir nun gelungen, durch Extraktion von Pflanzen mit destilliertem Wasser Stoffe zu erhalten, die völlig der V-Substanz in der Wirkung auf Bakterien entsprachen. Und durch die große Arbeit von Hansteen Cranner über das Vorkommen wasserlöslicher Phosphatide und ihre Diffusion in wässerige Lösungen war das Augenmerk ebenfalls wieder auf dieselbe Gruppe Lipoide-Phosphatide gelenkt. Da sich infolge der Alkohollöslichkeit des Cholesterins Versuche für die Bakterienzüchtung infolge der durch Alkohol möglichen Hemmung verboten, habe ich dann entsprechende Versuche mit Lezithin angestellt. Es hat sich hier ein sicherer Zusammenhang mit dem V-Stoff auffinden lassen. Niemals aber gelang es, durch bestrahltes Eisen allein oder durch Lezithin allein Wachstum zu erzeugen. Und so entstand dann im Verlauf der Arbeit

der Gedanke, daß wahrscheinlich irgendeine Beziehung zwischen beiden Stoffen notwendig sein müsse, um das Wachstum zu ergeben. Hier hat sich dann beweisen lassen, daß bestrahltes Lezithin in gleicher Weise auf das Ferrocyankalium wirkt, wie die Höhensonne (HS.). Nun handelte es sich noch darum, festzustellen, worauf diese Wirkung beruht. Die früheren Versuche wiesen daraufhin, daß durch die Bestrahlung eine Aktivierung des Eisens gegenüber dem Sauerstoff erfolgt. Ein ähnlicher Einfluß mußte also auch durch bestrahltes Lezithin eintreten. Es bestand die Vermutung, daß entweder Strahlenwirkung oder Spaltprodukte des bestrahlten Lezithins als Ursache der Eisenaktivierung in Frage kommen würden. Eine Strahlenwirkung ließ sich ausschließen; aber dafür fand sich, daß das bestrahlte Lezithin eine ausgesprochene Aldehydreaktion gab; und mit einem theoretisch möglichen Aldehydspaltungsprodukt der Lipoide, dem Acrolein, ließen sich die gleichen Reaktionen gegenüber Blut, Ferrocyankalium und Wachstum der IB. hervorrufen, wie mit bestrahltem Lezithin oder mit der HS.

Trotz der komplizierten Verhältnisse sind die Ergebnisse der Versuche doch so eindeutig und klar geworden, daß sich schließlich eine Definition der Wirkungsweise des bakterienwachstumsfördernden Vitamins hat ermöglichen lassen.

1. Teil.

Der X-Faktor.

A. Ueber unsere bisherigen Kenntnisse der Biologie des Bacillus influencae Pfeiffer.

1. Nährbodenbedürfnisse. Die besonderen Ansprüche des Influenzabazillus sollen hier nur so weit besprochen werden, wie es für die Rechtfertigung der zu schildernden Versuche notwendig ist[1]).

X- und V-Faktor. Praktisch hat sich nach Pfeiffers Entdeckung, daß der IB. zu seinem Wachstum Blut braucht, das Blut als unersetzbar erwiesen. Die theoretische Forschung aber ist über diese praktische Forderung hinausgegangen, und ihr Ziel war, festzustellen, welche Bestandteile des Blutes das Wesentliche seien. Bereits Pfeiffer hat vermutet, daß die Wirksamkeit des Blutes auf seinem eisenhaltigen Blutfarbstoff beruhe, und es ist in den letzten Jahren gelungen, diese Vermutung endgültig zu beweisen. Durch die Forschungen von Davis, Thjötta und Avery ist dann eine neue Frage aufgetaucht. Diese Autoren gaben an, daß neben dem normalen Nährbodenbedarf der gewöhnlichen Bakterien nicht nur eine besondere Substanz für das Wachstum der IB. notwendig ist, sondern deren zwei. Die eine, die, wie ich zeigen konnte, immer eisenhaltig ist, wird als **X-Faktor**, die zweite, die physikalischen und chemischen Einwirkungen gegenüber Aehnlichkeiten mit dem „Vitaminen' zeigt, als **V-Faktor** bezeichnet. Beide Stoffe kommen bemerkenswerterweise immer gemeinsam vor, und zwar sowohl im Blut wie in pflanzlichen Geweben.

Trennung der Faktoren. Eine Trennung beider Substanzen gelang mir dadurch, daß ich den verschieden hohen Konzentrationsgrad im Blut benutzte, und die verschiedene Wasserlöslichkeit in Pflanzen verwendete. Während der X-Faktor im festen Nährboden etwa bis zu einer Verdünnung des Blutes von 1:20000 wirksam ist, ist der V-Faktor nur bis zu einer solchen von 1:2000 wirksam. Man kann also einfach durch Verdünnung des Blutes über die Grenze 1:2000 den X-Faktor isolieren und den V-Faktor ausschalten. Die Wiedergewinnung des V-Faktors mußte

1) Geschichtliche Zusammenstellungen über den Nährbodenbedarf des IB. siehe Knorr, Weichhardts Ergebnisse, Bd. 7, Grassberger, Kollath, Luerssen, Olsen.

aus anderem Material, aus Pflanzen, erfolgen und war schwieriger; erst nach vielen vergeblichen Versuchen, gelang es mir, ihn durch Extraktion von Pflanzenteilen mit destilliertem Wasser bei tiefer Temperatur und nach kurzem Erwärmen der Mischung — zwecks Zerstörung der V-vernichtenden Oxydase der Pflanzen — zu erhalten.

Durch eine Mischung einer hochgradigen Blutverdünnung (eine Oese Blutlösung auf 5 ccm Nähragar) und 2 ccm dieses wässerigen Pflanzenextraktes auf 15 ccm Nähragar ließ sich ein vollwertiger Nährboden für den IB. herstellen (sogenannter „Vitaminagar"); jede Substanz für sich allein war stets völlig unwirksam. Die folgende Tabelle I gibt eine schematische Uebersicht über die gegenseitigen Beziehungen von V und X.

Tabelle I.

	V	X
1 Blut gekocht, ungekocht	+	+
2 Blut verdünnt 1:20000	—	+
3 Kartoffel	+	+
4 wässeriger Extrakt aus Kartoffel, frisch	+	—
5 derselbe nach 5 Wochen	+	+

Also können sich Nr. 2 und 4 gegenseitig ergänzen, während alle anderen für sich Wachstum ergeben.

Ammenwachstum. Aber auch auf anderem Wege können V- und X-Faktor erhalten werden. Grassberger beschrieb 1895 die eigentümliche Tatsache, daß eine große Zahl von Bakterien die Fähigkeit habe, in ihrer Umgebung besonders große IB.-Kolonien wachsen zu lassen. Er nannte diese Erscheinung „Riesenwachstum". Bei seinen Versuchen war freilich immer eine minimale Blutmenge im Agar notwendig. Anders aber lagen die Versuche bei dem Befund von Neisser, der auf blutfreiem Agar in Mischkultur IB. und Xerosebazillen züchten konnte. Auch Diphtheriebazillen und mehrere andere Bakterien waren zu dieser Beeinflussung des IB. imstande. Dabei befanden sich die IB. immer innerhalb der Mischkolonie oder unmittelbar am Rande und wuchsen nicht weit in der Umgebung wie bei der Grassbergerschen Form. Neisser nannte diese Erscheinung „Ammenwachstum". Wie mehrfach nachgewiesen ist, beruht die Grassbergersche Form darauf, daß die wirksamen Keime in übergroßer Menge die wachstumsfördernde Substanz produzieren, die wir als V-Faktor bezeichnen. Der notwendige X-Faktor wird dabei durch die geringe Blutmenge gewährleistet. Für die Neissersche Form des Ammenwachstums gelang es mir zu zeigen daß sie auf einer besonderen Fähigkeit der Bakterien bestimmten Eisenverbindungen gegenüber beruht: sie können eine an sich unwirksame Eisenverbindung derart umwandeln, daß der X-Faktor entsteht. Da diese Verbindung nicht weit in den Nährboden diffundiert, können die IB. also nur in oder unmittelbar am Rande der betreffenden Ammenkolonie die notwendigen Wachstumsbedingungen finden. Gleichzeitig müssen diese Neisserschen Bakterien die Fähigkeit haben, in geringen Mengen den V-Faktor zu produzieren; anders wäre überhaupt kein Wachstum möglich. Diese Neisserschen Bakterien bezeichne ich als Ammen erster Ordnung, diejenigen aber, die nur V. produzieren können, als Ammen zweiter Ordnung.

Die Tabelle I ist demnach durch diese Bakterien zu vervollständigen:

Tabelle II.

	V	X
1 Blut gekocht, ungekocht	+	+
2 Blut verdünnt 1:20000	—	+
3 Kartoffel	+	+
4 wässeriger Extrakt aus Kartoffel, frisch	+	—
5 derselbe nach 5 Wochen	+	+
6 Ammenbakterien 1. Ordnung	(+)	+
7 dieselben 2. Ordnung	+	—

Also kann Nr. 7 die Nr. 4 ersetzen. Und betont muß werden, daß stets beide Substanzen für das Wachstum der IB. notwendig sind.

Ferner ließ sich in einer großen Versuchsreihe zeigen, daß noch manche anderen Faktoren bei der Wachstumsverstärkung eine Rolle spielen können, z. B. Aenderung der Alkaleszenz des Nährbodens, Bildung hemmender Stoffe, die Beziehungen zu peptonisierenden Fermenten haben, usw. Insgesamt läßt sich mit Knorr die Erscheinung als Verbesserung eines — in irgendeiner Beziehung — nicht optimalen Nährbodens erklären. Bemerkenswert ist ferner, daß die peptonisierenden Fermente nicht die V-Substanz zerstören, sondern daß sie sich gegen unspezifische Nährbodenbestandteile richten, die der IB. außerdem zu seiner Ernährung braucht (Kollath). Aut einer entsprechenden Widerstandsfähigkeit gegenüber Verdauungsfermenten der „echten Vitamine" beruht ja auch die Möglichkeit, die „Vitamine" Mensch und Tier per os zuzuführen.

In weiteren Versuchen ließ sich dann zeigen, daß durch Zusatz von Traubenzucker und noch besser einer Aufschwemmung von abgetöteten Friedländer-Bazillen eine Wachstumsverstärkung der Ammenkeime hervorgerufen werden konnte, und daß dieser eigenen Wachstumssteigerung eine vermehrte Produktion der V-Substanz folgte; mit anderen Worten ist damit gesagt, daß der Friedländer-Bazillus, der selbst in hohem Maße die wachstumsfördernde V-Substanz produziert, nach seinem Tode von anderen Bakterien ausgenutzt werden kann zu einer erneuten V-Produktion; also kann die Anwesenheit von V-ähnlichen Stoffen eine V-Produktion von lebenden Bakterien zur Folge haben. Diese vermehrte Vitaminproduktion wird kenntlich durch eine Vergrößerung der IB.-Kolonien und durch die Erhöhung des Durchmessers der Reichweite um die Ammenkolonie. Auf einem für IB. sonst optimalen Nährboden wird das Wachstum der IB. durch diese Zusätze dagegen ziemlich gehemmt; ein Zeichen dafür ist, daß dann das „Riesenwachstum" eintreten konnte. Vor allem hemmte dabei der Zusatz von Traubenzucker. Diese hemmende Wirkung kam aber nur auf Blutagar, nicht aber auf dem „Vitaminagar" zur Geltung. Daraus muß man schließen, daß durch den Traubenzuckerzusatz das Blut irgendwie verändert wurde, aber nicht bezüglich seiner Wachstumsfaktoren. Diesem merkwürdigen Einfluß des Traubenzuckers auf Blut werden wir mehrfach wieder begegnen bei der Einwirkung des Lichtes auf Blut.

Beimpfungstechnik in den folgenden Versuchen. Für sämtliche Versuche verwendete ich einen besonders sorgfältig hergestellten peptonfreien Fleischwassernähragar, der immer vor Verwendung darauf geprüft wurde, daß er möglichst kein Eisen oder nur geringe Menge enthielt. Diese Eisenfreiheit hat sich nicht immer erreichen lassen und Versuchswiederholungen sind dadurch sehr häufig gewesen. Bei genügender Vorsicht aber läßt sich doch immer eine annähernde Eisenfreiheit des Nährbodens erreichen. Der Nachweis des Eisens in der Asche des Agars erfolgte durch Zusatz von HCl und Rhodanammonium.

Für die Beimpfungstechnik waren ebenfalls besondere Vorsichtsmaßnahmen notwendig. In früheren Versuchen habe ich immer mit Kochsalzaufschwemmungen der IB. gearbeitet, um möglichst isoliert liegende Kolonien zu erhalten. Bei den gegenwärtigen Versuchen kam es aber darauf nicht so an. Es war im Gegenteil wünschenswert, daß die Bakterien verhältnismäßig dicht lagen, damit eine große Zahl in Beziehung zu den Ammenkeimen treten konnte. Infolgedessen impfte

ich immer mit einer unverdünnten Bakterienmasse von Levinthal-Agar aus. In dichten parallelen Strichen wurde die Agaroberfläche nach Trocknen im Brutschrank beimpft und dann punktförmig die Ammenkolonie auf diese Impffläche gesetzt (s. Fig. 1). Durch die Verwendung der konzentrierten Bakterienmenge wurde allerdings eine gewisse Unsicherheit in diese Versuche eingeführt, die bei der Bewertung, ob Wachstum vorhanden war oder nicht, berücksichtigt werden mußte. Denn im Anfang der Strichlage waren natürlich große Mengen IB. dicht zusammen und es war damit die Möglichkeit gegeben, daß überlebende Keime aus toten arteigenen Bakterien Wachstumsstoffe beziehen konnten. Wie sich aus der Taf. I, Fig. 3 ergibt, treten dann auffallende, dem Impfstrich folgende ausgezackte Kolonien auf, die sehr bald kleiner werden und in nichts mit den Eigenschaften des Nähr-

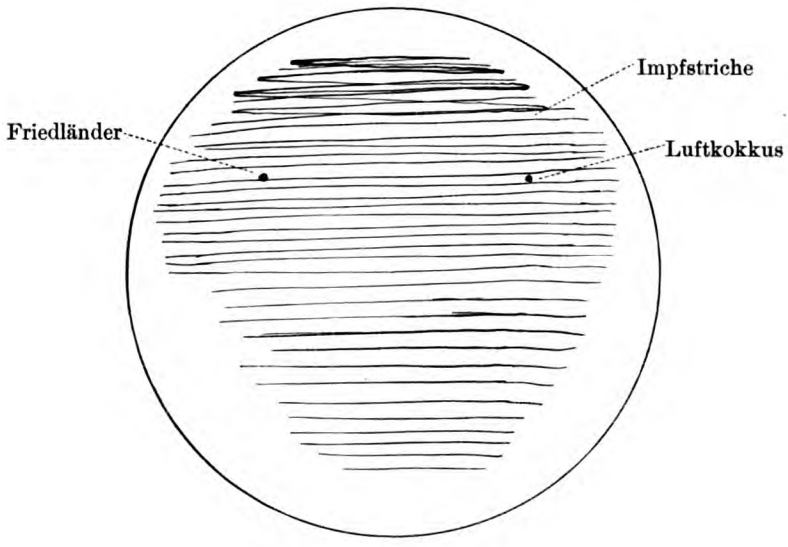


Fig. 1.

bodens zusammenhängen, sondern auf dieser Ernährung durch tote arteigene Bakterien beruhen. Ich habe seinerzeit für diese Wuchsform den Ausdruck „Kannibalismus" vorgeschlagen. Aus dem Vergleich der IB.-Kolonien um die dunkle Ammenkolonie mit diesen Kummerkolonien des Kannibalismus läßt sich am besten beurteilen, daß hier zwei ganz verschiedene Wachstumsbedingungen vorliegen, und vor allem beweist der freie Zwischenraum, daß das Wachstum nicht mit dem Nährboden zusammenhängt. Berücksichtigt man also diese Erscheinung, und bewertet man andererseits nur die ausgesprochene Tautropfenform als IB.-Kolonie — eventuell unter Verwendung von Klatschpräparaten —, dann lassen sich die Versuche mit großer Reinheit und Sicherheit beurteilen.

Als Vergleichsmaterial für die späteren Photogramme gebe ich noch zwei weitere Aufnahmen. Die erste Taf. 1, Fig. 1 zeigt das IB.-Wachstum auf Levinthal-Agar. Sämtliche Kolonien sind gleichgroß, die Kokkenkolonie (Ammenkolonie) am Rande bleibt ohne jeden Einfluß.

In Fig. 2 dagegen zeigt sich auf einem Nährboden, der nur Blutspuren enthielt, das weitreichende Graßbergersche Riesenwachstum.

Als Ammenkeime verwendete ich für die Versuche den Friedländer-Bazillus, der sich in meinen bisherigen Versuchen immer als ausgesucht wachstumsfördernd im Graßbergerschen Sinne erwiesen hatte, und einen Rosarosa-Luftkokkus, der die typischen Formen des Neisserschen Wachstums ergeben hatte.

B. Ueber Mineral-, insbesondere Eisenstoffwechsel.

Im vorigen Kapitel erwähnte ich, daß das Eisen eine maßgebende Rolle in der Biologie des IB. spielt. Von größtem Interesse war somit die Veröffentlichung von Baudisch und Welo in den „Naturwissenschaften", in der sie ein Uebersichtsreferat über Studien zum Mineralstoffwechsel gaben. Die Originalabhandlungen mit den Protokollen sind mir erst nach Beendigung meiner Versuche zugänglich gewesen, so daß ich mich nur auf diese zusammenfassenden Angaben verlassen mußte und nicht in der Lage war, dieselbe Versuchstechnik dieser Autoren anzuwenden. Ich benutzte lediglich diese Angaben als Anregung und prüfte sie mit meinen bisher angewendeten Methoden. Ein Auszug aus der Arbeit ist notwendig.

Licht als Aktivator für Eisensalze. Ausgehend von Neubergs Versuchen über das Wesen der natürlichen Mineralquellen und die Rolle des Eisens haben die Autoren zu einigen bekannten Erscheinungen verschiedene neue biologisch-wichtige gefunden. Wenn bereits bekannt war, daß beim „Altern" natürlicher Mineralquellen neben dem Entweichen der Luft ein Ausfall und „Inaktivwerden" der Eisenverbindungen stattfindet, daß als Zeichen dieser Inaktivität katalytische und peroxydaseähnliche Eigenschaften verloren gehen (Wasser von Vichy Glénard), so haben die beiden Autoren mit einer anderen Methode, mit Magnetismus und Röntgenstrahleninterferenzphotographie, gearbeitet und dadurch überraschende neue Ergebnisse gefunden. Ein Teil der Untersuchung galt den Eisenkarbonaten. Es ließ sich zeigen, daß frisch gefälltes Ferrobikarbonat den Sauerstoff der Luft begierig aufnimmt und ihn aktiviert infolge lockerer Bindung an den Eisenkern, wodurch gleichzeitig anwesende oxydable Körper, wie z. B. Milchsäure, Zucker, Pyrimidine oder gewisse Eiweißbausteine oxydativ abgebaut werden. Dem gealterten weißen Ferrobikarbonat ist dagegen die Aktivität gegenüber dem Sauerstoff verloren gegangen. Gleichzeitig tritt eine Umlagerung der Molekülstruktur ein.

Benzidin-Reaktion. Die gleiche Erscheinung des Alterns findet sich bei den Eisensalzen auch gegenüber der sonst als Reagenz auf Blut verwendeten Benzidinprobe. Im natürlichen Quellwasser ist die Sauerstoffaktivität der Eisenkarbonate dem Benzidinreagenz gegenüber bedeutend stabiler, während diejenige der im Reagenzglas erzeugten aktiven Eisenkarbonate sehr rasch verloren geht. Baudisch konnte zeigen, daß bei diesem „Altern" das Tageslicht eine entscheidende Rolle spielt; nach Entweichen der vorher gelösten freien Kohlensäure wird das nunmehr ungeschützte Ferro-Ion vom Sauerstoff der Luft zu unlöslichen Ferriverbindungen oxydiert.

Aktivierung des Ferro-Cyankaliums. Für die Vitaminfragen aber von größter Bedeutung ist dann der Befund von Webster und Baudisch; „sie fanden, daß man das zum Bakterienwachstum nötige Blut durch außerordentlich geringe Mengen „Aquosalz" (Natrium pentacyanoaquoferroat K. A. Hofmann $\left[\begin{matrix}OH_2\\Fe\\(NC)_5\end{matrix}\right]Na_3$) ersetzen kann. So genügen z. B. 0,002 mg per ccm der Nährbouillon, um die Bakterien zu kräftiger Entwicklung zu bringen. In der angegebenen Verdünnung erhält man mit diesem Nährmedium gerade noch eine starke Benzidinreaktion". Nach unseren bisherigen Kenntnissen müßten wir hieraus schließen, daß dieses „Aquosalz' dem X + V-Stoff entsprechen müßte. Wäre dies der Fall, dann müßte es auch auf festem Nährboden ein IB.-Wachstum ergeben. Aus meinen früheren Ausführungen über den „Kannibalismus" geht aber hervor, daß die Züchtung in Bouillon bei diesen Ernährungsversuchen bedenklich ist, und so dürften

meine abweichenden Resultate mit dieser verschiedenen Technik zu erklären sein. „Ganz ähnlich wie das Aquosalz verhält sich eine belichtete Lösung von Ferrocyankalium, aus welcher sich, wie Bandisch und Baß gezeigt haben, „Aquosalz" bildet. „Wir sehen hier den interessanten Fall, wie aus einer inaktiven Verbindung durch Bestrahlung mit Sonnenlicht eine aktive gebildet wird, . . ." Es verhält sich bei längerer Bestrahlung wie die oben erwähnten Ferrokarbonate, wird also unwirksam. Die Autoren folgern: „Aus diesen Vergleichen und experimentellen Ergebnissen ist zu ersehen, daß aktive Eisenverbindungen, welche in ihrer einfachsten Form in frischen, natürlichen Mineralwässern enthalten sind, am Ende die einfachste Form, die Urform, des Blutes darstellen." Als „aktive" Eisenverbindungen bezeichnen die Autoren diejenigen, die erstens die gewöhnliche Benzidinreaktion geben, zweitens Einfluß auf das Wachstum anspruchsvoller Bakterien wie des IB. haben, und drittens Absorption von Sauerstoff zeigen. Gleichzeitig mit dem Inaktivwerden werden die Eisenverbindungen unmagnetisch.

„Anorganisches Vitamin"? Die Vitaminlehre besonders wird aber berührt von den theoretischen Erwägungen, die beide Forscher aus diesen Ergebnissen ziehen. „Die wichtigsten Kräfte für die Bildung aktiver, labiler vitaminähnlicher Verbindungen[1]) sind strahlende Energie und Magnetismus". „Aus den Versuchen von Webster und Baudisch geht weiter hervor, daß Ferrocyankalium auf das Wachstum gewisser Bakterien (Influenza, Pneumonie u. a.) keinen Einfluß hat, während sich „Aquosalz" selbst in einer Verdünnung von 1 : 200000 wie ein Vitamin verhält, d. h. das Bakterienwachstum ermöglicht. Der Uebergang einer inaktiven Verbindung in eine aktive durch den Einfluß von Sonnenlicht ist hier demonstriert." „Gleichzeitig können wir den Prozeß als das einfachste Modell einer Bildung eines anorganischen Vitamins durch Sonnenbestrahlung auffassen"[1]). Als Ursache der Bildung „aktiver" Verbindungen im Erdinnern vermuten Baudisch und Welo radioaktive Kräfte. Der Leser steht hier also plötzlich statt vor einem „aktiven Eisen" vor einem „anorganischen Vitamin", ohne daß früher davon ein Wort verlautet. Nach unseren bisherigen Kenntnissen, die ich oben zusammengefaßt habe, ist diese Annahme kaum verständlich, da wir zwar auch mit einem Eisenfaktor (X-Faktor), aber auch immer mit einem weiter notwendigen V-Faktor zu rechnen gewohnt sind. Zu bestätigen wäre die Annahme eines anorganischen Vitamins nur durch den Beweis, daß die V-Substanz eine Eigenschaft des X-Faktors sei, ein Beweis, den die Autoren nicht geführt haben. Daß dieser Mangel an der Verwendung der flüssigen Nährböden liegen kann, habe ich oben erwähnt.

Eisen als Katalysator. Einige Bemerkungen anderer Autoren über den Mineralstoffwechsel sind hier notwendig. Nach Warburg dient überall in der Natur in den tierischen Zellen Eisen als Katalysator. Die eisenhaltigen roten Blutkörperchen haben nach Asher nicht nur die Aufgabe der Atmung, sondern dienen auch als Spender der Puffer-Substanz zwecks Erhaltung der normalen Blutreaktion. — Sie sind ferner nach Henderson wichtig für die Alkalireserve, Chloraufnahme und -abgabe. „Ueberall spielt das Eisen die Hauptrolle."

Eisen als Sensibilisator. Die hier einzureihenden Arbeiten Neubergs über den Einfluß des Eisens gehen über auf ein anderes großes Gebiet, die Frage der Sensibilisatoren, auf die ich erst später in anderem Zusammenhang eingehen kann. Unter Sensibilisatoren verstehen wir Substanzen, die imstande sind, eine an

1) Von mir gesperrt.

sich noch nicht beeinflußbare Substanz so zu verändern, daß sie durch eine dritte — in diesem Falle Lichtwellen — beeinflußt wird. Als wirkende Ursache zeigt sich dabei die Anregung des O-Stoffwechsels (Straub). Immerhin müssen einige Befunde bereits hier angeführt werden. Neuberg und Galambos stellten fest, daß Beziehungen zwischen mineralischen Katalysatoren und fluoreszierenden Farbstoffen bestehen. Uran und Eisen sind stark, Mangan schwächer wirksam. Auch Sonnenlicht scheint wirksam und diffuses Tageslicht. „Möglich, daß Ferro- und Ferriionen ganz allgemein eine Uebertragung der Lichtenergie vermitteln"[1]). Sie denken sich den Vorgang als eine „ständige Bildung von Oxydul $\rightleftarrows$ Oxyd[1]), als Lichtreaktion und katalytische Reaktion. Das Substrat wird oxydiert, der Katalysator reduziert. Tappeiner, auf dessen Arbeiten ich später zurückkomme, vermutet als Grundlage der Lichtschädigung sensibilisierter Zellen zwar auch einen Oxydul $\rightleftarrows$ Oxydvorgang, glaubt aber, daß nicht er allein das Schädliche sei, sondern daß auch Fluoreszenz und photochemische Vorgänge daneben eine Rolle spielen. Keller berichtet über die Sensibilisierung des Urannitrats und Ferriammoniumalauns für die durch Glas passierenden Strahlen. Eiweiß, Fette und Kohlehydrate werden nach Neuberg durch Mineralstoffe lichtempfindlich; dabei entsteht erstens eine durch Spaltung hervorgerufene Molekülverkleinerung (ähnlich den spaltenden Enzymen), und zweitens entstehen Substanzen chemisch-höchster Avidität, die überaus reaktionsfähigen Aldehyde und Ketone[1]).

Ueber komplexe Verbindungen von Ferrosalzen, H_2O_2 und Eiweißstoffen berichten Röhmann und Shmamine. Auch nach ihnen ist die wesentliche Rolle des Eisens die Sauerstoffübertragung. Diese ist abhängig von dem eigenen O-Gehalt der Eisenverbindung. „Zweiwertiges Eisen- und dreiwertiges, vielleicht stets nach vorheriger Reduktion — bildet in reinwässeriger Lösung und auch in kolloidalen Lösungen unter bestimmten Bedingungen mit H_2O_2-Verbindungen, die ein verhältnismäßig hohes Oxydationspotential besitzen und die Oxydation von Stoffen vermitteln, die von dem molekularen O nicht, oder nur sehr langsam, angegriffen werden[1]). Die Reaktion kann nach den Versuchen von Wolf und Stoecklin eine katalytische sein und sowohl hierin wie in ihrer Abhängigkeit von Temperatur, Einfluß von $H+$, $OH-$ die weitgehendste Aehnlichkeit mit der Wirkung der in tierischen und pflanzlichen Geweben vorkommenden Peroxydasen besitzen. Daß dies für die Erforschung des Wesens der Peroxydase von Bedeutung ist, liegt auf der Hand. Jene komplexen Eisenverbindungen aber als „künstliche Peroxydasen" zu bezeichnen, erscheint uns nicht erlaubt, da die Vermutung aufkommen könnte, als ob die Peroxydasen mit den komplexen Eisenverbindungen identisch wären[1]), was um so weniger berechtigt ist, als es nach Ansicht mancher Forscher Peroxydasen gibt, die kein Eisen enthalten." In diesen Sätzen kann man bereits eine Kritik gegenüber der Arbeit von Baudisch und Welo sehen, die die Benzidinreaktion des belichteten Eisens mit der die Peroxydase des Blutes anzeigenden Benzidinreaktion des

1) Von mir gesperrt.

Blutes gleichzusetzen scheinen. Wir kommen hier bereits auf Zusammenhänge zwischen Licht und Eisen. Da wir vorzugsweise im UVL. die chemisch wirkenden Strahlen zu sehen gewohnt sind, und da ich später besonders mit UVL. gearbeitet habe, gebe ich im folgenden eine Uebersicht über unsere derzeitigen Kenntnisse von diesen Zusammenhängen, soweit Beziehungen zu der Arbeit bestehen.

C. Allgemeine Angaben über ultraviolettes Licht.

I. Physikalische Angaben. Unsere heutige Kenntnis der in der Atmosphäre wirksamen UVS. beruht zum größten Teil auf den Arbeiten von Dorno und wird ergänzt durch die Arbeiten von Hausser und Vahle, Hasselbach, v. Schrötter u. a.

Dorno hat nachgewiesen, daß in der Sonnenstrahlung und Himmelsstrahlung nur — günstigenfalls — Strahlen bis herab zur Wellenlänge 290 μμ vorkommen. Hasselbalch bewies bereits früher, daß die Haut ein hohes Absorptionsvermögen für UVS. hat, das am stärksten zwischen 280 μμ und 320 μμ ist, und Hausser und Vahle zeigten, daß gerade diese Wellenlängen es sind, die das Erythem verursachen. Gleichzeitig verursachen sie wahrscheinlich auch die Pigmentbildung. Die Strahlen, deren Wellenlänge kleiner als 290 μμ ist, werden bereits in den oberen Schichten der Atmosphäre absorbiert und zwar durch den erheblichen Ozongehalt (Edgar Meyer). Diese selben Strahlen von 210 μμ—290 μμ wirken zerstörend auf Ozon, während die Strahlen, die kürzer als 200 μμ sind, den O_2 zu O_3 verändern. (Lénard und Regener).

Aus diesen Angaben folgt zwingend, daß wir in der Höhensonne (Hanau) — ganz abgesehen von dem Bandenspektrum — eine Leuchtquelle besitzen, die völlig anders ist als das natürliche Licht. Denn wir haben in ihr Strahlen bis zu 210 μμ herab. Diese „weitaus wirksamsten Strahlen der Quarzlampe sind dem Organismus feindliche, vor denen uns die Natur durch die Erdatmosphäre bewahrt hat, unter deren Dauerwirkung der Mensch und wohl alles organische Leben schweren Schaden nehmen, vermutlich untergehen würde. Richtig dosiert sind sie darum als Inzitament und Heilfaktor ebenso hoch einzuschätzen, wie die gifthaltige, Krankheit bekämpfende Medizin und das Messer des Operateurs (Dorno)". Aber nicht nur für die Therapie, sondern auch für die Forschungen verwenden wir bekanntlich diese in unserer Atmosphäre nicht vorkommenden Strahlen. Man kann zwar sagen, daß deshalb für Stoffwechselversuche, z. B. auf dem Vitamingebiet, nur Blauviolettfilter verwendet werden dürften, die das kurzwellige UV. bis 280 μμ absorbieren. Dieses Licht würde dann seinem UV.-Gehalt nach den natürlichen Verhältnissen mehr entsprechen.

Trotzdem habe ich es für meine Versuche für zulässig gehalten, die Höhensonne ungefiltert anzuwenden, zumal auch die meisten ähnlichen Versuche (z. B. bei Rattenrachitis) bei voller Ausnutzung der HS. vorgenommen wurden. Sicher ließen sich alle entsprechenden Versuche auch im gewöhnlichen Tageslicht ausführen, aber die sogenannten chemisch wirksamen Strahlen der Quarzlampe erlauben uns, an sich langsam verlaufende Vorgänge zusammenzuziehen und dadurch Dinge in der Bewegung zu erfassen, die uns sonst wegen des zu langsamen Ablaufs entgehen würden. Bedenklicher ist aber, daß wir in der Quarzlampe hinsichtlich der Intensität ein sehr variables und nicht sicher meßbares Instrument besitzen. Die Schwankungen des Stromes sind groß, namentlich während des Einbrennens (Schall und Alius); der biologische

Effekt jedoch soll von diesen Schwankungen wenig abhängig sein. Im übrigen habe ich diesen Fehler dadurch zu vermeiden gesucht, daß ich vor Beginn der Versuche die Lampe 25 Minuten einbrennen ließ. Das Fehlen eines Einheitsmaßes für die Wirkung macht sich bei diesen Versuchen sehr störend bemerkbar, weil eigentlich jede Lampe anders arbeitet.

Physiologische Wirkung. Aus der großen UVL.-Literatur kann ich hier nur die Stellen anführen, die für die vorliegenden Probleme, also für den Mineralstoffwechsel und die Vitaminbildung von Bedeutung sind.

Zunächst ist vom physikalischen Standpunkt aus zu sagen: nur diejenigen Strahlen können wirken, die zur Absorption gelangen. Genaue Absorptionsuntersuchungen, systematisch für alle in Frage kommenden Gebiete fehlen noch, aber es sind doch eine Anzahl einzelner Beobachtungen veröffentlicht, die gewisse Rückschlüsse erlauben. Danach wird von der Leichenhaut nach Hasselbalch 98 Proz. des kurzwelligen UV. absorbiert und nur 2 Proz. gelangen ins Kapillarblut. Auch nach Ziegler und Sonne ist diese Beeinflussung des Kapillarblutes erwiesen. Ein tieferes Eindringen kann auf keinen Fall stattfinden, und es ist viel wahrscheinlicher, daß die allgemeine physiologische Wirkung von Produkten ausgeht, die entweder in den oberflächlichsten Epithellagen oder in dem Kapillarblut durch die UVS. abgespalten werden. Daß außerdem zwischen Körperzellen, Blutserum und Blutfarbstoff Unterschiede in der Lichtabsorptionsfähigkeit bestehen (Thiele und Wolf, v. Schubert, Schultze, Sonne u. a.) ist bekannt. Vor allem absorbiert der Blutfarbstoff das langwellige UVL.

Nun ist aber die Strahlenwirkung auf die lebenden Körper in der Natur nicht lediglich an die UVS. gebunden, sondern dem gesamten Lichtgebiet kommt eine Wirkung zu; die periodische Einwirkung des Lichtes, das Fehlen in der Nacht, das natürliche Vorkommen von Sensibilisatoren (Chlorophyll, Eisen) sind die Faktoren, die unserer Pflanzenwelt erst das Wachstum ermöglichen. Manches von dem, was das milde Tageslicht langsam bewirkt, können wir unserem, doch nur roh empfindlichen Sinn erst durch Anwendung intensiverer Reize, durch UVS, kenntlich machen. Man muß aber bei allen Versuchen daran festhalten, daß letzten Endes die UVS. uns nur als Symbol für die Lichtwirkung dienen, und daß vielmehr die allgemeine strahlende Energie als das unter natürlichen Bedingungen wirksame Prinzip anzusehen ist (Hertel). Die Verschiedenheit liegt eben nur in der Stärke der Wirkungen auf die Organismen. Nach Bering steigert Weißlicht bereits den Oxydationsvorgang, Blaulicht fördert stärker, Grün- und Gelblicht am meisten, aber auch Lichtstrahlen mit erhöhter Penetrationsfähigkeit — also langwellige Strahlen (gelb—rot) —, vermögen die Zellatmung anzuregen (Bering und Meyer). Diese Tatsache ist als Fehlerquelle bei derartigen Lichtuntersuchungen in Rechnung zu ziehen. Auch bei meinen Versuchen habe ich oft unklare Resultate erhalten, die mit der Lichtverteilung im Laboratorium zusammenzuhängen schienen. (Fenster nach Südwesten, Sonnenschein usw.). Erst dauernde, langwierige Wiederholungen führten dann zu sicheren Resultaten. Nimmt man noch hinzu, daß nach Ansicht einzelner Autoren alle unsichtbaren Strahlengattungen trotz ihrer physikalisch-divergenten Eigenschaften das gemeinsam haben, daß sie sich bei der Absorption im Gewebe in ein kurzwelliges UVL. umwandeln (Goldstein, Gassul), und daß dies auch hinsichtlich der biologischen Qualitäten für Thorium X und Röntgenstrahlen gelten soll (Zöllner und Gudzent), so sehen wir eine kaum faßbare Möglichkeit von Strahlenwirkungen. Daß nun aber nicht alle bisher beobachteten Erscheinungen lediglich als Strahlenwirkung aufgefaßt werden dürfen, geht aus meinen Versuchen hervor, durch die die Anwesenheit hochwirksamer Spaltungsprodukte bewiesen ist. Hier scheint es sich um indirekte Lichtwirkungen zu handeln.

Was nun die allgemeine physiologische Bedeutung des Lichtes für die Lebensvorgänge insgesamt betrifft, so sind die Meinungen hier noch geteilt. Während Tizzoni und Filetti fanden, daß 23 Tage alte Kaninchen durch Dunkelaufenthalt unter Hämoglobinabnahme starben, wird von Borissow eine derart lebenswichtige Bedeutung des Lichtes bestritten. Bei Untersuchungen über Zechenpferde (Grober und Sempell), die jahrelang im Dunkeln leben, hat sich gefunden, daß keine wesentlichen Veränderungen im Blut auftraten. Vielleicht bestehen Unterschiede

zwischen jungen und alten Tieren? Im ganzen wird man aber doch annehmen müssen, daß alles Leben in irgendeiner Weise vom Licht abhängig ist.

Die ersten Versuche über den Einfluß des Lichtes stammen von Heinrich Quincke, der nachwies, daß durch Tageslicht und noch mehr durch Sonnenlicht die Oxydationsprozesse gesteigert werden. Damit ist die Grundlage aller physiologischen Lichtforschung gegeben. In der Pflanze findet die Synthese der Kohlehydrate (Stoklasa) und, was hier das Wesentliche ist, aller Wahrscheinlichkeit nach auch die Bildung desjenigen statt, was wir als „Vitamine" ansehen.

UVS. und Blut. Für meine Versuche ist es nun aber von wesentlicherer Bedeutung, welche Rolle der UVS. auf Blut und seine einzelnen Bestandteile wir kennen, bzw. vermuten. Zunächst wissen wir, daß eine Vermehrung der roten Blutkörperchen, eine Erhöhung des Hämoglobingehalts und eine Blutdrucksenkung die unmittelbare Folge der Bestrahlung ist. Die Blutdrucksenkung kann man dabei als reaktiv ansehen und als Ursache die Ausdehnung der Hautkapillaren vermuten (Loevy, v. Schrötter, Sonne, Naswitis, Asada). Chemisch soll Bestrahlung wie angestrengte Muskelarbeit wirken (Koenigsfeld). Hasselbalch wies ferner nach, daß Methämoglobin in reduziertes Hämoglobin überführt wird (s. auch Bordier und Nogier); im Dunkeln abgespaltener Sauerstoff wird mit Hglb. zu O-Hglb. vereinigt. Gottschalk und Nonnenbruch wiesen an überlebenden Froschmuskelzellen nach 20—45 Minuten UVL.-Bestrahlung mäßige Beschleunigung der Gewebeatmung nach mit einem Gipfel in 30 Minuten; länger dauernde Einwirkung (60—90 Minuten) schädigten dann die Atmungsvorgänge.

UVS. und Blutfermente. Eine besondere Form der Einwirkung besteht nun gegenüber den Blutfermenten, der Katalase und Peroxydase. Nach Bering und Meyer tritt bei kürzerer Bestrahlung eine stärkere Wirkung der Peroxydase ein, bei längerer aber eine Hemmung. Der gleiche Effekt wird vom Sonnenlicht berichtet. Hasselbach bestätigt diese Untersuchungen für die Katalase, die nach W. Ewald dazu berufen ist, das O-Hglb. in den Kapillaren zu reduzieren und ihm sein O abzuspalten. Kreibich fand die Katalase beständiger als die Oxydase und Peroxydase, was ich in meinen Versuchen nicht bestätigen kann. Dabei wurde vielmehr die Katalase eher zerstört als die anderen Fermente.

Ueber den Mechanismus dieser Wirkungen stellt man sich nach Rost vor, daß das Licht im lebenden Blut eine Labilisierung der lipoiden Substanzen bewirke und dadurch eine Beschleunigung der Oxydation hervorrufe (Aschoff). Es wirkt demnach als eine Art Reduktionsmittel, indem, wie Grober ausgeführt hat, das O-Hglb. des Blutes der Hautkapillaren unter dem Einfluß des UVL. reduziert wird und das freiwerdende O an die Gewebe abgegeben und statt dessen CO_2 aufgenommen wird. Nach Hasselbalch lösen die UVS. unter 310 $\mu\mu$ die Lipoidmembran der roten Blutkörperchen, und er denkt deshalb an eine Fettsäurewirkung, „da Lezithin, das ja auch in Erythrozyten vorkommt, bei Bestrahlung in Anwesenheit von Uranylverbindungen eine Zunahme seiner Azidität aufweist" (Neuberg).

Strahlenhämolyse. Auf dieser Lösung der Lipoidmembran beruht wohl auch die Strahlenhämolyse (Hausmann), die bei geeigneten Bedingungen durch alle Strahlen, außer Ultrarot, stattfinden kann, wenn auch am stärksten durch UVS. (Busk, Hasselbalch), weil sie am stärksten absorbiert werden. Aber auch rote Strahlen können sowohl hämolytisch wie bakterizid wirken (Thiele und Wolf, Wiesner). Dazu kommen noch Veränderungen der Kolloidstabilität des menschlichen Blutplasmas (Starlinger).

Die photodynamische Hämolyse soll in ihrer Empfindlichkeit mit dem Gehalt an Lezithin und Cholesterin zusammenhängen; sie schreitet auch nach Lichtabschluß fort und bedarf einer Latenzzeit (Sekunden bis 2 Tage) bis zu ihrem Eintritt (Hasselbalch), wohl ein Hinweis auf eine indirekte Wirkung durch Spaltprodukte. Zusatz von Serumeiweiß und Traubenzucker hemmen sie (Busk, Hausmann)[1]. „Sie führt nicht über Veränderungen des Cholesterins der roten Blutkörperchen und ist nicht das Ergebnis einer Lysinbildung aus dem Lezithin oder eines anderen intermediär gebildeten Giftes" (Hasselbalch).

Außerdem besteht noch eine besondere Wirkung der Strahlen gegenüber den Eiweißstoffen; Chalupecky fand bei Untersuchungen über Eier- und Linseneiweiß eine Verminderung der Albumine, Vermehrung der Globuline und Koagulation. Bei der Blutbestrahlung macht sich die Gerinnung sehr störend bemerkbar, so daß mit konzentrierten Lösungen wenig einheitliche Ergebnisse zu erhalten sind.

Eine äußerst wesentliche Eigenschaft ist aber noch zu erwähnen. Schläpfer wies nach, daß bereits unbestrahltes Blut eine Wirkung auf die photographische Platte hat, und daß diese Photoaktivität durch UVS verstärkt wird, etwa 8 Tage anhält und beliebig oft wieder hervorgerufen werden kann. F. W. Schmidt gibt an, daß wahrscheinlich eine direkte UV.-Strahlung vom Blut aus auftritt, weil diese Wirkung auch bei Zwischenschaltung von Quarzplatten stattfinden soll, was von Sonne nicht bestätigt ist.

UVS. und Stoffwechsel. Bestehen hier bereits zahlreiche Parallelen zu meinen Versuchen (Einfluß auf den Sauerstoffwechsel, auf die Blutfermente, das Lezithin), derenwegen ich so ausführlich referieren mußte, so dehnt sich dieses Gebiet auch auf den Mineralstoffwechsel aus. Nicht nur das Hglb. wird vermehrt, sondern auch der Kalkspiegel steigt. Hier sind die Beziehungen zur Rachitis gegeben (Rothmann und Callenberg, Stepp); es liegen ähnliche Verhältnisse vor, wie bei der Hypadrenalinanämie. Und damit ist auch der Anschluß gegeben an diejenigen Autoren, die in Erkrankungen der Drüsen mit einer inneren Sekretion die Ursachen der Rachitis sehen (Vollmer). Eine Herabsetzung des Blutzuckers durch Bestrahlung beschrieb Rothmann. Nehmen wir noch hinzu, daß von Sonne nachgewiesen ist, daß durch die gleichzeitig auftreffenden Wärmestrahlen eine mit dem Vordringen in die Tiefe steigende Temperatur hervorgerufen wird (bis zu 47,5° in 3—4 cm Tiefe), daß außerdem sicher eine Steigerung der Abwehrmechanismen des Blutes eintritt (Sonne, Colebrook, Hill und Eidinoff), teilweise wohl unter dem Einfluß der Erwärmung, so dürften die hier in Frage kommenden Beziehungen der UVS. zum Stoffwechsel in den einfachsten Grundlagen angeführt sein.

Dabei müssen wir von den Wirkungen der UVS. hier einige wesentliche Gebiete beiseite lassen: die Rolle der Pigmentierung und die Bakterizidie. Die an sich sehr wichtige Frage der Pigmentierung, die wieder nahe Beziehungen zu der Rolle der Sensibilisatoren hat, kann im Rahmen dieser Abhandlung nur gestreift werden. Es scheint mir, als ob bei den pigmentierten und behaarten Tieren das Pigment eine wesentliche Rolle spielen müßte, um statt der durch das Haarkleid absorbierten UVS. langwellige tiefdringende Strahlen zur Wirkung gelangen zu lassen. Und die Frage der Bakterizidie steht in einem zu losen Zusammenhang mit dem hier behandelten Problem, als daß sie ausführlich angeführt werden müßte. Erwägt man zu diesem bunten Bild noch, daß es nach E. Fischer 2 Hämoglobine und 2 Chlorophylle geben soll, die sich durch ein O-Atom unterscheiden, und daß deshalb auch wahrscheinlich verschiedene Reaktionen hier doppelt verlaufen werden, dann gewinnt man einen ungefähren Ueberblick über die Mannigfaltigkeit der möglichen Fragen.

1) Vgl. dazu die hemmende Wirkung des Traubenzuckers auf die IB. bei Züchtung auf Blutagar.

D. Einfluß von Sensibililatoren.

Sensibilisierende Farbstoffe. Oben ist bereits erwähnt, daß bestimmte Stoffe als „Sensibilisatoren" wirken können. Tappeiner und Jodlbauer haben darüber berichtet, daß bestimmte Farbstoffe die Fähigkeit besitzen, an sich schwach oder gar nicht wirkende Strahlen Infusorien gegenüber hochwirksam zu machen. Zuerst gelang dies durch den Nachweis, daß Paramäzien im Licht starben, wenn diese Farbstoffe der Lösung zugesetzt wurden. Zu den wirksamen Farbstoffen gehört in besonders markanter Weise auch das Hämotoporphyrin, durch das nach Arzt und Hausmann auch langwellige Strahlen (580 bis 490 $\mu\mu$, rot bis grünblau) wirksam werden. Normalerweise soll aber Hämotoporphyrin im Körper nicht vorkommen; immerhin dürfte eine Untersuchung von Bleierkrankungen hier von Interesse sein.

Sensibilisierende Mineralien. Neuberg hat diese Befunde ausgedehnt auf die Wirkung von Mineralstoffen auf Eiweiß, Fette und Kohlehydrate. Nach ihm entsteht dabei „eine durch Spaltung hervorgerufene Molekülverkleinerung, wobei die Strahlen eine dem spaltenden Enzym ähnliche Wirkung entfalten. Die molekulare Spaltung läßt dann Substanzen von höchster chemischer Avidität entstehen, hauptsächlich die stark reaktionsfähigen Ketone und Aldehyde ..." „Auch Eisensalze, wie organische Eisenverbindungen, können tierische und pflanzliche Zellen in höchstem Grade photosensibel machen"[1]). Solche Eisenverbindungen sind in den natürlichen Mineralquellen enthalten; beim „Altern" verlieren sie die Wirkung (zit. nach Leidner). Man nahm anfangs einen Zusammenhang mit der Fluoreszenz an und machte diese direkt für die Wirkung verantwortlich. Straub hat dann aber zeigen können, wie oben erwähnt, daß diese Wirkungen nur eintreten, wenn freier O vorhanden ist, und daß sie auf gesteigerter Atmung beruhen. Diese Versuche machte Straub mit Eosin. Er schloß, daß das Eosin ein autoxydabler Körper sei, da die Fähigkeit der Abspaltung von O auftritt. Er vermutet als das reagierende Oxydationsprodukt ein Peroxyd; da ferner die Reaktion nur bei Individuen ohne Kutikula auftritt, denkt Straub an die Abspaltung von O innerhalb der Zellen. Der freigewordene O verbrennt das Plasma. Stark photodynamisch sind die von Bakterien produzierten fluoreszierenden Farbstoffe; und auch Arzneimittel, wie Chinin gehören dazu[2]).

Pinkussen, dem wir besonders weitreichende Untersuchungen über diese Fragen verdanken, kommt zu dem Schlusse, daß man je nach Anwendung der verschiedenen Sensibilisatoren jeden gewünschten Effekt erreichen kann. Für den Bakteriologen ist dabei von Interesse, daß sich grampositive und gramnegative Bakterien Sensibilisatoren gegenüber verschieden verhalten.

Bezüglich der Rolle des Chlorophylls, das ebenfalls sensibilisierend wirkt, muß die Angabe von Neuberg und Peterson erwähnt werden, daß bei Nacht in den Pflanzen Säurebildung erfolgt, die bei Tage wieder verschwindet. Es handelt sich dabei um ein Fortnehmen saurer Gruppen aus organischen Säuren und direkte

1) Von mir gesperrt.

2) Kritschewsky und Muratowa haben berichtet, daß Chinin und Lecithin eine gemeinsame Ursache für das Schwarzwasserfieber seien und sich gegenseitig in der Wirkung steigern sollen. Asbelew hat diese Befunde zwar nicht voll bestätigen können, aber unter Berücksichtigung der später von mir angeführten Ergebnisse über die Wirkung kleinster Mengen unter dem Einfluß des Lichtes dürfte eine Nachprüfung doch Erfolg versprechen.

Bildung von fixem Alkali. Für die Beziehungen zwischen Milchsäure, Eisen und Sonnenlicht gibt er an: CO_2 entweicht, Acetaldehyd entsteht und die Avidität (Azidität?) wird geringer. Unter dem Lichteinfluß tritt ein beträchtlicher Umfang der Alkalibildung ein, bis zu 63 Proz. der theoretisch möglichen Menge.

v. Schrötter hebt hervor, daß die Proteinstoffe gleich anderen einfachen und komplizierten C-Verbindungen, wie man schon auf Grund des hohen Absorptionsvermögens derselben für UVS. annehmen kann, in verschiedenem Grade photosensibel, durch die Wirkung strahlender Energie gespalten werden, wobei Spuren anorganischer Substanzen (Eisen- und Mangansalze) sowie endo- und exogene Katalysatoren (Hämatoporphyrin, Zucker, Aceton bzw. verschiedene Farbstoffe) die Empfindlichkeit gegen Licht und damit die Zerlegbarkeit steigern. Andererseits kann die innige Mischung eiweißartiger Substanzen mit Metallverbindungen Ursache dafür sein, daß diese bei Belichtung angegriffen werden, auch wenn sie an sich nicht oder nur schwach photosensibel sind." An eine Hämolyse im Körper durch Strahlen glaubt er nicht.

Wir finden also als Grundlage der im folgenden zu schildernden Versuche eine reiche Fülle von Erfahrungstatsachen. In erster Linie steht das Licht, vertreten vorzugsweise durch die UVS., und als Objekte seiner Wirkung finden sich die Mineralverbindungen in ihrer Beziehung zum O-Stoffwechsel von Tier und Pflanze. Daß bei dieser Übersicht eine kurze schematische Zusammenfassung nicht möglich ist, ergibt sich dann aus der verschiedenen Rolle der Sensibilisatoren. Dieser dadurch hervorgerufenen Schwierigkeiten kann man nur durch dauernde Wiederholung der Versuche Herr werden.

Wenn ich im folgenden aus den früheren Angaben manches wiederhole, so möge das mit meinem Wunsche entschuldigt werden, alle Versuche in ihrem Verlauf möglichst klar zu gestalten. Die Fragen, die in diesem Teile zunächst beantwortet werden sollen, sind:

1) Wirkt UVL. auf die wachstumsfördernden Substanzen des Blutes im Sinne einer Förderung oder Zerstörung?

2) Lassen sich Mineralverbindungen (Ferrocyankalium oder Mangan) durch UVS. derart verändern, daß die wachstumsfördernden Substanzen entstehen?

3) Wenn ja, welche Veränderungen gehen dabei in der Eisenverbindung vor sich?

4) Ist bestrahltes Eisen als „Vitamin" aufzufassen?

E. Eigene Versuche.

In den bisherigen Mitteilungen aus der Literatur habe ich das Material gegeben, dessen ich mich als Handwerkszeug bei meinen Versuchen bedient habe. Die verschiedenen Gebiete, die dem gewöhnlichen Arbeitsfeld des Bakteriologen im allgemeinen ferner liegen, mußten zur Begründung der Versuche ausführlich und jedes für sich abgehandelt werden. Es handelte sich gewissermaßen bisher darum, die Fundamente zu legen, auf denen jetzt die Versuche ausgeführt werden können. Weshalb einzelne, anscheinend zusammenhanglose Angaben dabei gemacht worden sind, wird sich bei der Besprechung der Versuche zeigen.

Meine Versuche selbst habe ich geteilt in solche, in denen ich mich mit dem Einfluß des Lichtes auf den X-Faktor (Blut- oder Eisenverbindungen bzw. Mangan) und den V-Faktor und seinen Zusammenhang mit Phosphatiden beschäftigte. Letzterem gilt der zweite Teil der Arbeit. Hier folgen zunächst die Versuche, die auf das Wesen des X-Faktors Bezug haben.

Technische Vorbemerkung. Ueber meine Impfmethode habe ich oben berichtet. Für die weiteren technischen Einzelheiten ist noch folgendes nachzuholen:

Der Nähragar war regelmäßig peptonfrei, hatte eine pH = 7,4; die beimpften Nährböden wurden bei 37° bebrütet und nach 24 und 48 Std. abgelesen. Als IB.-Stamm verwendete ich einen absolut typisch wachsenden Stamm: Stamm-Kinderklinik, dessen ich mich immer auch in früheren Versuchen bediente.

Als Lichtquelle diente ein neuer Quarzbrenner der Höhensonne (220 Volt 6 Amp.). Anfangs habe ich bei offener Lampenhaube bestrahlt, später bei geschlossener Lampenhaube durch eine 6 cm weite Blende ohne Filter. Dadurch wurde die Wärmewirkung fast aufgehoben. Das zu untersuchende Material bestrahlte ich anfangs in flacher Schicht in einer Petri-Schale, später zwecks genauerer Dosierung in einer Quarzschale, in abgemessener Menge von 20 ccm. Dadurch wurden sämtliche Lösungen den gleichen Verhältnissen ausgesetzt, und nach der Entnahme des Materials blieb immer die entsprechende Menge zurück. Die Entfernung von der Höhensonne betrug, wenn nicht anders bemerkt, 20 cm.

Versuchsreihe 1. Ueber den Einfluß des UVL. auf die wachstumsfördernden Eigenschaften des Blutes.

Wenn eine Beziehung zwischen den wachstumsfördernden Eigenschaften des Blutes und dem UVL. besteht, dann muß man nach dem Arndt-Schulzschen Grundgesetz erwarten, daß einer durch kleine Reize verursachten Bildung bzw. Förderung der wachstumsfördernden Substanz eine Störung durch starke Reize folgen muß. Daß die Fermente des Blutes zerstört werden können, ist oben erwähnt und wenn auch, wie aus den früheren Versuchen von Knorr, Knorr und Gehlen, Kollath hervorgeht, keine Identität der Blutfermente, insbesondere der Peroxydase mit den wachstumsfördernden Eigenschaften des Blutes besteht, so konnten doch die einschlägigen Reaktionen als Indikatoren dienen, um den Grad der UVL.-Wirkung festzustellen, da andere Methoden fehlen.

Versuch 1: Eine 5proz. Blutkörperchenlösung in destilliertem Wasser wird in offener Petri-Schale in flacher Schicht der HS ausgesetzt und bestrahlt. Nach 5, 10, 20, 30 und 45 Min. wird mit der Pipette eine Probe entnommen und verarbeitet. Die Benzidinprobe wird angestellt in einem Gemisch von 1 Proz. Benzidin, kalt in Eisessig gelöst, davon 1 ccm + 1 ccm 3proz. H_2O_2; zu dieser Mischung kommt nun 0,1 ccm der Blutlösung (Peroxydase); für die Katalasereaktion wird 0,2 ccm zu 2 ccm 3proz. H_2O_2 gegeben; schließlich wird 1 ccm der Blutlösung zu dem Nährboden gesetzt und dann 1 Min. aufgekocht, in Petri-Schalen gegossen und nach Erstarren in der oben beschriebenen Technik beimpft.

Tabelle III.

Einfluß der UVS auf Blutfermente und wachstumsfördernde Stoffe.

Minuten	0	5	10	20	30	45	bestrahlt
Benzidinreaktion	+++	+++	++	+	+	+	
Katalase	+++	+++	++	+	(+)	—	
Wachstum der IB.	++	++	++	++	++	++	

Es erhellt aus dieser Tabelle: Durch die Bestrahlung wird die Peroxydase langsamer als die Katalase abgeschwächt (entspricht den Angaben von Bering und Meyer). Die wachstumfördernden Faktoren bleiben unverändert.

Dieser Versuch ist nun aber ziemlich unrein, da zahlreiche Komponenten dabei vorhanden sind, die ihn komplizieren. Einmal ist die angewendete Blutlösung ziemlich konzentriert (s. o. über Gerinnung

und Absorption), so daß die Strahlen nur wenig eindringen können, und wenn auch mit größter Vorsicht entnommen wurde, so gab das doch bei mehrfachen Wiederholungen für die einzelnen Reaktionen zeitliche Unterschiede. Gemeinsam blieb immer, daß niemals eine Abschwächung des IB.-Wachstums beobachtet wurde.

Versuch 2. Zwecks feinerer Ausschläge wurden zu diesem Versuch Verdünnungen des Blutes angewendet und zwar 1, $^1/_{10}$- und $^1/_{100}$proz. Lösungen von Blutkörperchen in destilliertem Wasser. Aus der Tabelle IV ergibt sich, daß in der 1proz. Lösung (ein Unterschied

Tabelle IV.

Dauer der Bestrahlung in Minuten	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60
0,1 ccm der 1proz. Lösung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$^1/_{10}$proz. Lösung	+	+	(+)	−	−	+	+	+	(+)	−	−	−	−	(+)	−
$^1/_{100}$proz. Lösung	+	(+)	(+)	−	−	(+)	−	−	−	−	−	(+)	−	(+)	(+)
	Benzidinreaktion					Katalasereaktion					Wachstum der IB				

gegenüber dem Verhalten in der früher benutzten 5proz. Lösung) eine Abschwächung der Benzidinreaktion nicht nachzuweisen war. Ursache ist wohl neben der starken Absorption in der konzentrierten Lösung die Tatsache, daß bei der 5proz. Lösung eine starke Gerinnung eintrat, so daß viel Blutfarbstoff in den Gerinnseln absorbiert und bereits dadurch eine Verarmung der Lösung an Farbstoff bewirkt wurde. In den schwächeren Verdünnungen ist dagegen der zerstörende Einfluß der UVS. wieder deutlich. Was nun das Wachstum der IB. betrifft, so ist bei Zusatz der 1proz. Lösung ebenfalls keine Abschwächung zu beobachten, und auch bei den geringeren Verdünnungen fand sich gelegentlich noch nach 45 Min., selbst nach 60 Min. Wachstum. Wenn hier das Wachstum unregelmäßig verteilt ist, dann dürfte die Ursache in der Schwierigkeit liegen, so geringe Blutmengen ganz gleichmäßig in flüssigem, aber doch gelatinösem Agar zu verteilen. Gerade dies Auftreten in der 1:100proz. Lösung nach 60 Min. Bestrahlung aber zeigt, daß eine Zerstörung durch UVL. in der angegebenen Zeit nicht erfolgt, während die Peroxydase längst zerstört ist. Ueberhaupt kommt diesen hier geschilderten Versuchen lediglich eine orientierende Rolle zu. Nach allem, was ich eben an komplizierten Wirkungen des UVL. auf Blut angegeben habe, konnte man kaum erwarten, daß lediglich durch Bestrahlung von Blut Rätsel gelöst werden könnten, wie sie hier vorliegen. Und so schloß ich aus diesen Versuchen auch nur, daß die Blutbenzidinreaktion eine ganz rohe, das Wesen der Vitaminwirkung nicht berührende Reaktion ist, daß kein Parallelismus zwischen Benzidinprobe und wachstumsfördernden Substanzen besteht und daß ihr nur die Rolle zukommt, für die Anwesenheit einer chemischen Aktivität oder aktiven Fermenttätigkeit zu sprechen. Ueber das Wesen der Wachstumsfaktoren ließ sich nach diesen Versuchen nichts aussagen.

Versuch 3. Ueber den Einfluß des UVL. auf Hämoglobin Merck.

Tabelle V.

Dauer der Bestrahlung in Minuten	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60
1proz. Lösung	+++	++	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$^1/_{10}$proz. Lösung	+++	++	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$^1/_{100}$proz. Lösung	++	+	+	(+)	(±)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Benzidinreaktion					Katalasereaktion					Wachstum der IB				

In diesen Versuchen wurde geprüft, ob ein an sich unwirksamer X-Faktor, der nicht mit V vergesellschaftet ist, durch Bestrahlung wieder aktiviert werden kann. Es ergibt sich, daß zwar die Benzidinreaktion weitgehend in allen Verdünnungen zerstört wird, daß dagegen sowohl Katalase wie Wachstum der IB. völlig fehlen. Eine Aktivierung des Hämoglobins Merck (X-Faktor) findet also nicht statt. Es fehlt der V-Bestandteil.

Versuch 4. Nachdem in diesen bisher geschilderten Versuchen mit serumfreien Blutfarbstoffen gearbeitet war, mußte versucht werden, ob durch Anwendung von Verdünnungen defribrinierten Blutes andere Resultate zu erreichen waren.

Bestrahlung eines Gemisches von Serum und Blutkörperchen

Tabelle VIa.

Dauer der Bestrahlg. in Min.	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60
1proz. Lösung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$^1/_{10}$proz. Lösung	+	+	+	(+)	(±)	+	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—
$^1/_{100}$proz. Lösung	+	+	(+)	(+)	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Benzidinreaktion					Katalasereaktion					Wachstum der IB				

Diese selben Lösungen wurden zwecks Sensibilisierung versetzt mit 1 ccm einer 0,1proz. Erythrosinlösung auf 100 ccm der Blutserumlösung.

Versuch 5. Er ergab folgendes Resultat:

Tabelle VIb.

Dauer der Bestrahlg. in Min.	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60	0	5	15	45	60
1 proz. Lösung	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—
$^1/_{10}$proz. Lösung	+	+	+	(+)	(+)	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
$^1/_{100}$proz. Lösung	+	(+)	—	—	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Benzidinreaktion					Katalasereaktion					Wachstum der IB				

Es ergibt sich ein ganz ähnliches Resultat, nur ist die Abschwächung der Fermentreaktion, wohl infolge des Serumgehalts (s. die Versuche von Busk), wesentlich geringer in der 1proz. Lösung, als bei Verwendung von gewaschenen roten Blutkörperchen. Es ist durchaus möglich, daß dieses in der Absorption besonders der kurzwelligen Strahlen durch das Serum seinen Grund hat. Durch den Zusatz von Erythrosin wird die Zerstörung deutlich verstärkt, was sich aber auch nur bei den geringer prozentigen Lösungen findet.

Wenn in allen diesen Versuchen keine Zerstörung der wachstumsfördernden Stoffe gefunden wurde, so kann das verschiedene Ursachen

haben. Einmal bestrahlte ich die Lösungen immer nur 1 Std. Die Ursache dafür war, daß bereits nach 30 Min. bei den 1proz. Lösungen deutlich Gerinnungsvorgänge im Blut auftraten, und daß durch diese Zusammenklumpungen von Blutfarbstoff und Serum eine Mischung im Agar, wie sie für diese Versuche notwendig gewesen wäre, nicht mehr möglich war. Durch die Schließung der Lampenhaube und die Ausschaltung der Wärmewirkung ließ sich dieser Fehler nur zum geringen Teil beseitigen. Zwar gelang es, die Temperaturerhöhung in 1 Std. von einer Zunahme von 25° auf 2—3° herabzudrücken, aber die Gerinnungsvorgänge traten doch immer wieder auf. Daß die Wärmewirkung allein nicht die Ursache für die Herabsetzung der Fermentreaktion sein konnte, zeigte sich durch einen Kontrollversuch (Versuch 6), bei dem ich dieselben Blutlösungen im Wasserbad bei 50° hielt. Hier trat niemals irgend eine Aenderung im Verlauf 1 Std. ein.

Versuch 7. In dem vorhergehenden Versuch ist zwar durch Erythrosinzusatz in dem Gemisch von Serum und Blutkörperchen eine Störung der Fermente erfolgt, ein Wachstum der IB. hat sich aber nicht ermöglichen lassen. Die Ursache für diese Befunde liegt, wie der nächste Versuch ergibt, darin, daß die einfache Beimpfung mit Influenzabazillen nicht ausreichte, um diese feinen Vorgänge kenntlich zu machen. Ich entschloß mich daher, von diesen Versuchen ab regelmäßig auch das Ammenwachstum in Beziehung zu diesen Wirkungen zu prüfen. Hierbei bekam ich auch deutliche Ausschläge. Die Tabelle VII zeigt einen Versuch mit bestrahltem, defibriniertem Blut, mit und ohne Zusatz von Erythrosin.

Tabelle VII.

Dauer der Bestrahlung in Minuten	0	5	15	30	45	0	5	15	30	45	0	45	0	45
1proz. Lösung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
$^1/_{10}$proz. Lösung	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—	—	(+)	(+)	—	—
$^1/_{100}$proz. Lösung	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
dasselbe mit Erythrosinzusatz 1%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
$^1/_{10}$proz.	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)	—	—	(+)	(+)	+	+
$^1/_{100}$proz.	(+)	(+)	—	—	—	(+)	(+)	—	—	—	(±)	(±)	+	+
	Benzidinreaktion					Katalasereaktion					IB allein		Amme + IB (rosa Luftkokkus)	

Wir finden in dieser Tabelle kaum einen Unterschied in der Fermentzerstörung bei Zusatz von Erythrosin, wohl aber findet sich, daß bei Zusatz des Ammenkeimes (rosa Luftkokkus) bei Anwendung von Erythrosin die Neissersche Form des Ammenwachstums eingetreten ist, auch bereits ohne Bestrahlung. Nach unseren bisherigen Kenntnissen müssen wir annehmen, daß hierbei der X-Faktor, der sonst im Blute voll geeignet ist, unwirksam durch den Zusatz von Erythrosin wurde, und daß der Luftkokkus die Fähigkeit hatte, ihn wieder voll funktionsfähig zu machen. Wir haben also durch diese Versuche zwar einen Hinweis gefunden, daß der X-Faktor mit der Bestrahlung im Zusammenhang steht, aber irgendwelche Hinweise auf das Wesen des V-Faktors sind aus diesen Versuchen nicht zu gewinnen. Ich habe auch dieselben Versuche nicht mehr mit anderen Sensibilisatoren

angestellt, da ich mir später die Ueberzeugung gebildet hatte, daß auf diesem Wege dem V-Faktor nicht näherzukommen sei. Zunächst habe ich weitere Versuche nach dem Wesen des X-Faktors mit Ferrocyankalium unternommen. Diese führten zu einem eindeutigen Resultat.

F. Versuche mit Ferrocyankalium und Manganchlorür.

In diesen nächsten Versuchsreihen komme ich zu den Versuchen, die durch die oben erwähnten Arbeiten von Baudisch und Welo angeregt wurden.

Auch für diese Versuche benutzte ich 1-, $^1/_{10}$- und $^1/_{100}$proz. Lösungen der Metallsalze, die nun in gleicher Weise, wie das Blut, bestrahlt wurden. Die Farbenveränderungen der an sich farblosen Lösungen des Ferrocyankaliums unter dem Einfluß der HS sind bekannt, und man hat versucht, darauf ein Dosimeter für die HS aufzubauen (Bordier). In diesem Zusammenhang interessiert aber nicht sowohl der Farbenumschlag, der unter UVL. sehr schnell eintritt, sondern das von Baudisch und Welo angegebene Auftreten der Benzidinreaktion, und die von ihm damit in Zusammenhang gebrachte Frage einer Wachstumsförderung der IB. In der Tabelle VIII habe ich zunächst eine Anzahl von Versuchen zusammengestellt, in denen 1proz. Lösungen verschiedener Eisensalze und von Manganchlorür auf ihr Verhalten gegenüber der Benzidin- und Katalasereaktion geprüft wurden, und zwar unter dem Einfluß der HS.

Versuch 8.

Tabelle VIII.

Dauer der Belichtung in Minuten	0	5	15	30	45	0	5	15	30	45
	Benzidinreaktion					Katalasereaktion				
Ferrozyankalium	((+))	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+
Ferrosulfat	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
Fer. oxyd. ammoniat.	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
Eisenalaun	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
Manganchlorür	—	—	—	—	(+)	—	—	—	—	—

Also nur Ferrocyankalium und Manganchlorür zeigten irgendwelche Veränderungen bei diesen Reaktionen unter dem Einfluß der Bestrahlung. Wegen dieses Befundes habe ich auch das Manganchlorür in meine Versuchsreihen aufgenommen, wenn ich auch alle Reaktionen nur als ein Zeichen der O-Aktivierung betrachtete und als nicht im Zusammenhang stehend mit der V-Substanz vermutete.

Zur Benzidinreaktion des Ferrocyankaliums. Einige Worte zu der „Benzidinreaktion" des Ferrocyankaliums sind notwendig. Zuförderst ist zu bemerken, daß die ganze Reaktion in ihren chemischen Einzelheiten noch nicht restlos geklärt ist, und daß somit nur allgemein ein Farbumschlag der Lösung und nicht eine spezielle Farbe als positiv angenommen worden ist. Wenn man bei der Reaktion auf Blut eine ausgesprochene Blau-Grünfärbung verlangt, so fand sich bei Ferrocyankalium nur ein rotbrauner oder schmutzig-grüner Farbton. Aehnliche Tönungen können auch nach längerem Stehen der Blut-Benzidinlösung eintreten. Man sieht bei Ferrocyankalium meist rote bis braunrote, öfters auch gelbe Farbtöne, und bei meinen Versuchen habe ich einen positiven

Ausschlag nur dann bewertet, wenn ein deutlicher Farbunterschied gegenüber der Kontrolle (unbestrahlte Lösung), die im gleichen Moment mit der linken Hand pipettiert wurde, eintrat; für biologische Zwecke reicht auch wohl diese allgemeine Betrachtung, die auf eine Sauerstoffübertragungsfähigkeit hindeutet, praktisch aus.

Ich sah auch in dieser Reaktion nicht das wesentliche Moment meiner Versuche, sondern betrachtete diese Farbänderungen nur als beiläufige Indikatoren für den Hauptversuch: die Wachstumermöglichung der IB. Eine kurze Zusammenstellung über Farbenunterschiede bei der Benzidinreaktion mit Blut und Ferrocyankalium will ich gleichwohl anfügen.

1) Blut, unbestrahlt, mit Benzidineisessig + H_2O_2 wird erst blaugrün, dann braunrot.
2) Blut, bestrahlt, mit demselben Reagenz bleibt fast farblos.
3) Ferrocyankalium, unbestrahlt, mit derselben Lösung, wird erst gelb, später (am Tageslicht) braunrot.
4) Dasselbe, bestrahlt, wird zuerst schmutzig-blaugrün, dann schmutzig-braunrot.

Versuch 9. Bei den eigentlichen Versuchen habe ich ebenfalls den Einfluß des Erythrosins auf die Lösung mit Bestrahlung geprüft. In der Tabelle IX sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Als Zusatz zum Nährboden wurde in den angegebenen Abständen 1 ccm der bestrahlten Lösung zugesetzt. Da von vornherein nicht zu erwarten war, daß die IB. wuchsen, verwendete ich als Ammenbakterien wieder den rosa Luftkokkus, der in der Lage war, das X aus einer noch ungeeigneten Form zu bilden, und zweitens den Bazillus Friedländer, der nur dann wirkte, wenn das X in geeigneter Form vorhanden war, und der dann die Graßbergersche Form des Ammenwachstums zeigte. Durch die Versuchsanordnung war die Möglichkeit gegeben, die Bildung von X sowohl in optimaler Form als auch in der Vorform zu beweisen. Außerdem konnten die IB. auf den von den Ammenkeimen nicht mehr beeinflußten Teil der Platte auch wachsen, wenn in der Tat eine volle V-Wirkung entstanden war.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß zunächst unter dem Einfluß der UVS. in 5 bis 15 Min. eine Verstärkung oder ein Neuauftreten der Sauerstoffübertragung oder der Katalasefähigkeit eintritt. Die deutlichsten Unterschiede finden sich bei den $^1/_{100}$proz. Lösungen, bei denen sich vor allem auch zeigt, daß bei Zusatz von Erythrosin zu Ferrocyankalium die Reaktion in 15 Min. den Höhepunkt erreicht, in 30 Min. wieder absinkt und in 45 Min. erlischt. Beim Manganchlorür treten unter Erythrosinzusatz weit schnellere Reaktionen ein. Was nun das Wachstum betrifft, so wurde ohne Zusatz von Ammenkeimen im Gegensatz zu den Angaben von Baudisch und Webster niemals ein Wachstum der IB. beobachtet; wohl aber findet sich ohne deutliche Abhängigkeit von der Dauer der Belichtung ein Ammenwachstum (Neisser), bei Zusatz von Erythrosin sogar echtes Riesenwachstum um die Friedländer-Kolonie. Es muß sich also eine Vorform des X-Faktors gebildet haben, bei Erythrosinzusatz sogar wohl der X-Faktor selbst. Auffällig bleibt aber, daß bereits auf den unbestrahlten Platten das Ammenwachstum gelegentlich auftrat. Dieser Erscheinung, die sich selbst bei ganz frisch herge-

Tabelle IX.

		Benzidinreaktion						Katalase						Ammenwachstum: rosa Luftkokken			Ammenwachstum: Baz. Friedl.		
		0	5	15	30	45	60	0	5	15	30	45	60	0	5	60	0	5	60
Ferrozyankalium	1 Proz.	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	—	(+)	+	—	—	—	—		+++	—		—
	$^1/_{10}$ Proz.	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—	(+)	+	—	++		—	—		—
	$^1/_{100}$ Proz.	—	+	((+))	((+))	((+))	((+))	—	+	—	—	—	—	+		—	—		—
Ferrozyankalium + Erythrosin	1 Proz.	—	(+)	((+))	((+))	((+))	(+)	—	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	++	++	—	+	++
	$^1/_{10}$ Proz.	+	((+))	((+))	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
	$^1/_{100}$ Proz.	—	+	+	((+))	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	+	+	+	+
Mangan-chlorür	1 Proz.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		+	—		—
	$^1/_{10}$ Proz.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—		—
	$^1/_{100}$ Proz.	—	—	—	—	((+))*)	((+))*)	—	—	—	—	—	—	—		—	—		—
Mangan-chlorür + Erythrosin	1 Proz.	—	—	((+))*)	((+))*)	((+))*)	((+))*)	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—
	$^1/_{10}$ Proz.	—	—	((+))**)	((+))**)	((+))**)	((+))**)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	$^1/_{100}$ Proz.	—	—	((+))**)	((+))**)	((+))**)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

*) bräunlicher Farbbton
**) bläulicher Farbton

Für die freigebliebenen Felder sind keine Versuche angestellt.

stellten Lösungen von Ferrocyankalium fand, habe ich dann besondere Aufmerksamkeit geschenkt, da mir diese Befunde darauf hinzudeuten schienen, daß die Rolle des UVL. doch als nicht unbedingt notwendig anzusehen sei, und weil sie den Verdacht erweckten, daß irgendwelche Produkte im Agar, die sich vielleicht beim Stehen des Agars im Licht gebildet haben konnten, dabei eine Rolle spielen könnten. Aus meinen späteren Versuchen, bei denen ich dann kaum vorstellbar kleine Mengen als geeignet gefunden habe, das Ferrocyankalium sauerstoffaktiv zu machen, scheint mir nun hervorzugehen, daß irgendwelche derartigen Vorgänge auch bei diesen unbestrahlten Lösungen eine Rolle gespielt haben. Einen Beweis für diese Auffassung konnte ich jedoch nicht mehr bringen, da ich nicht mehr denselben Agar, wie in den ersten Versuchen zur Verfügung hatte, und da jede Agarart irgendwelche Unterschiede vor der anderen hat. Erst als ich bei meinen im zweiten Teil geschilderten Versuchen diese Möglichkeiten der Wirkungen kleinster Mengen ins Auge fassen lernte, habe ich dann diese Fehlerquellen vermeiden können.

Manganchlorür. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, tritt auch bei Anwesenheit von Manganchlorür bei den 1proz. Lösungen Ammenwachstum auf. Mit diesen Versuchen ist zum ersten Mal bewiesen, daß das Mangan das Eisen in der Züchtung des IB. unter bestimmten Umständen zu ersetzen vermag [vgl. dazu das oben angegebene gleiche Verhalten des Mangans und des Eisens als Sensibilisator (Neuberg)]. Das Ausbleiben des Ammenwachstums auf den anderen Manganplatten ist die beste Kontrolle für die Notwendigkeit der konzentrierten Lösungen. Auch hier gehen Benzidinreaktion und Katalase nicht mit dem Wachstum parallel wie beim Blut.

Wenn durch die Bestrahlung der X-Faktor in optimaler Form hergestellt wäre, wie es beinahe nach dem Riesenwachstum um den Friedländer-Bazillus bei Ferrocyankalium und Erythrosin den Anschein hat, dann wäre anzunehmen, daß durch Zusatz des V-Faktorhaltigen Kartoffelwassers ein Wachstum der IB. eintreten würde. Aber dies war niemals der Fall, also auch selbst hier war die Tätigkeit der Ammenbakterien, oder in weiterem Sinne, die Wirkung lebender Planzenzellen für die Herstellung des optimalen X-Faktors unbedingt notwendig. Auf keine Weise war es möglich, die Pflanzenzelle zu umgehen, geschweige denn den Beweis zu führen, daß ein „anorganisches Vitamin" aus Eisenverbindungen hergestellt werden konnte, wie es nach den Angaben von Baudisch und Welo hätte erfolgen müssen. Im Gegenteil sprachen diese Versuche mit aller Bestimmtheit dafür, daß die V-Substanz im Zusammenhang stehen müßte mit irgendeiner organischen Verbindung, die wohl ubiquitär im Pflanzenreich und in den meisten Bakterien vorkommen muß. Andererseits aber wird auch durch diese Versuche bewiesen, daß eine Mineralverbindung für das Eintreten des Wachstums unbedingt notwendig ist, und es ist daher die Frage aufzuwerfen, ob jede Substanz getrennt für sich auf den IB. wirkt, ob es also neben einer Mineral-Substanz eine Vitamin-**Substanz** gibt, oder ob nur

die Kombination zwischen beiden das ergibt, was wir als Vitaminwirkung im Wachstum des IB. erkennen.

G. Versuche über das Wesen der Umänderung des Ferrocyankaliums durch UVS. Mit diesen Versuchen betrete ich ein Gebiet, was mir als Nichtchemiker eigentlich nicht zugänglich ist. Wenn ich es gleichwohl wage, einige Beobachtungen mitzuteilen, so tue ich das teils deswegen, weil in der Literatur ähnliche Dinge und Schlußfolgerungen berichtet sind, ich also nicht allein stehe, und teils, weil ich über einige zufällige Beobachtungen verfüge, die sich regelmäßig bei Wiederholungen einstellten, und weil diese Beobachtungen doch schließlich zu bestimmten Vorstellungen führten, was für Reaktionen chemischer Natur der Wirkung des Eisens zugrundeliegen können.

Es ist selbstverständlich, daß ich in keiner Weise darauf Anspruch machen kann, mehr als einen nur ganz allgemeinen Hinweis zu geben. Grundsätzlich ist überhaupt zu den hier mitgeteilten Versuchen zu sagen: Wenn ich auch, wie oben erwähnt, Anregungen zu diesen Versuchen aus der Literatur entnommen habe, so ist doch der Grundgedanke meiner Arbeit, das Wesen der Vitaminwirkung für Bakterien als eine Gemeinschaftswirkung von Mineral und einem noch hypothetischen Faktor zu erklären, neu und unerforscht. Die zahlreichen Fragen chemischer Natur bedürfen noch eingehender Prüfungen, um die Beobachtungen mit Sicherheit zu klären. Diese Arbeit ist nur ein erster Versuch, Naturerscheinungen, die bisher nur in loser oder gar keiner Beziehung zu den Vitaminfragen bei Bakterien standen, unter einem gemeinsamen Begriff zusammenzufassen und in großen Zügen dieses Problem zu umreißen. Meine Versuche sind nach Möglichkeit so angestellt, daß sie diejenigen Lücken, die ich zwischen bisher bekannten Tatsachen fand, zu überbrücken geeignet sind. Erwähnen möchte ich noch, daß diese Untersuchungen auch eine Komplikation durch das Verhalten der Bakterienstämme erfuhren. Während sich der Luftkokkus in meinen früheren Versuchen in Gemeinschaft mit IB. auf eisenhaltigem Nährboden regelmäßig zu idealen Ammenkolonien im Neisserschen Sinne entwickelte, änderte er oft sprunghaft sein Verhalten beim Wechsel des Nährbodens. In ähnlicher Weise konnten sich auch gelegentlich innerhalb der Friedländer-Kolonien IB.-Kolonien entwickeln. Diese Erscheinung dürfte dem auch sonst von Bakterien bekannten Wechsel der Lebenserscheinungen bei Wechsel des Nährbodens — hinsichtlich Virulenz, Säureproduktion — in Parallele zu setzen sein. Jedenfalls ist sicher bei diesen Versuchen das Resultat in hohem Maße abhängig von der Beschaffenheit des Nähragars und es muß die nächste Aufgabe sein, in ähnlicher Weise wie Braun und seine Schüler einen synthetischen Nährboden aufzufinden, auf dem mit Zusatz des X- und V-Stoffes der IB. wachsen kann. Erst dann wird die endgültige Antwort auf alle Fragen gegeben werden können.

Diese Fehlerquellen, die vom Nährboden ausgehen, ließen sich nur beseitigen durch eine dauernde Wiederholung der Versuche bis — unter Berücksichtigung aller Kontrollen — einwandfreie Resultate erhalten waren. Und das ist stets gelungen.

Doch möchte ich nach dieser Abschweifung zurückkehren zu den Beobachtungen, die ich bei den chemischen Reaktionen des bestrahlten Eisens gemacht habe. Und wenn auch dem Chemiker manche von diesen Beobachtungen geläufig sein mögen, so glaube ich doch, daß sie bei einer eventuellen Nachprüfung meiner Versuche gute Dienste leisten können.

Versuch 10. Chemische Reaktion des bestrahlten Ferrocyankaliums. Die gelb-grüne Farbe, die die Ferrocyankaliumlösung, langsam bei Stehen am Tageslicht, schnell unter Einwirkung von UVL. annimmt, erinnert an die der Ferricyankaliumlösung. Es lag somit der Verdacht nahe, daß hier eine O-Uebertragung auf das Ferrocyankalium stattgehabt haben könnte, und daß es sich also um

Oxydul-Oxyd-Vorgänge handeln könne, wie sie früher von Neuberg (s. oben) beschrieben sind. Um nun festzustellen, ob tatsächlich solche Umlagerungen stattfanden, habe ich entsprechende Reaktionen angestellt, doch haben sich niemals weder mit Ferrosulfat noch Ferrichlorid und HCl-Reaktionen auf dreiwertiges Eisen oder auch Zeichen für die Abnahme des zweiwertigen Eisens finden lassen. Ueberraschend aber war, daß bei Zusatz von Rhodankalium und HCl das unbelichtete Ferrocyankalium keine Reaktionen ergab, das bestrahlte aber eine im Tageslicht immer mehr zunehmende Blaugraufärbung erkennen ließ. Im Dunkeln konnten hier wieder andere Farbtöne eintreten, niemals aber trat eine Rotfärbung ein, wie sie allerdings auch bei Ferricyankalium mit Rhodanammon kaum zu erwarten war. Da sich nun aber zeigte, daß bereits bei Zusatz von chemisch reiner Salzsäure eine allerdings erheblich geringere Blaufärbung im bestrahlten Ferrocyankalium bildete, die nur bei Rhodanammonium verstärkt wurde, will es scheinen, als ob sich eine labile Eisenverbindung gebildet haben kann, und als ob diese Blaufärbung in irgendeiner Verwandtschaft zu der Berliner Blaureaktion oder einer anderen entsprechenden Ferro-Ferri-Reaktion stehen könne. Man muß wohl annehmen, daß durch die Bestrahlung eine labile Verbindung entstanden ist, für die diese Blaufärbung beim Zusatz von reiner Salzsäure charakteristisch sein dürfte. Ob diese Reaktion charakteristisch ist für die von Baudisch und Welo angeführte „Aquo"-Verbindung, vermag ich nicht anzugeben.

Als weitere Beobachtung möchte ich in diesem Zusammenhang erwähnen, daß das Gemisch von Ferrosulfat und Ferrocyankalium und HCl bei längerer Belichtung einen deutlichen Unterschied bei Betrachtung im UVL. gibt. Während das unbelichtete Ferrocyankalium in diesem Gemisch eine deutliche violette Fluoreszenz zeigt, nimmt diese mit der länger dauernden Bestrahlung immer mehr ab. Man denkt hier unwillkürlich an Zusammenhänge zwischen den von Tappeiner und anderen beschriebenen Fluoreszenzvorgängen bei Sensibilisatoren.

Weiter prüfte ich, ob durch Zusatz von H_2O_2 allein ohne Bestrahlung nachweisbare Veränderungen in der Ferrocyankaliumlösung entstehen. Es fand sich sofort nach Zusatz dieselbe Grünfärbung, wie bei der Bestrahlung. Bestrahlte man dieses Gemisch, dann wurde die Grünfärbung sehr schnell ganz intensiv, wie nie ohne Zusatz von H_2O_2. Dieses scheint mir ein Hinweis, daß in der Tat Sauerstoffübertragung die wesentliche Rolle bei allen diesen Erscheinungen spielt. Besonders deutlich zeigte sich diese Verstärkung der Wirkung, wenn man eine Lösung von Benzidineisessig, H_2O_2 und Ferrocyankalium unter die Höhensonne brachte. Dann wurde dieses Gemisch, das bei Tageslicht nur langsam dunkler wurde, in wenigen Minuten fast tiefschwarz, der Farbstoff fiel in Flocken aus, und die Lösung selbst war fast farblos. Im Dunkeln aber trat in dieser Lösung eine Blau-Grünfärbung auf, ein Hinweis, auf die Wechselwirkungen zwischen Licht und Dunkel, vielleicht ähnlich den von Neuberg gefundenen und oben angeführten Reaktionen. Ohne die chemischen Vorgänge näher zu analysieren, zumal sie gerade bei diesen Verbindungen durchaus noch nicht alle geklärt sind, wird man doch wohl aus diesen Beobachtungen schließen müssen, daß unter dem Einfluß des Lichtes ein sauerstoffabgebender Körper, wie das H_2O_2, das Eisen in wesentlicher Weise aktivieren kann, ähnlich wie dieses durch UVS. erfolgt. Und diese Versuche können somit von Bedeutung sein für das Verständnis der Vitaminwirkungen, wie sich aus den im zweiten Teil angestellten Versuchen ergeben wird.

Versuch 11. Erwähnen muß ich hier noch: Bestrahlungsversuche in gewöhnlichen Reagenzgläsern zeigten, daß die durch Glas passierenden Strahlen eine ganz ähnliche Wirkung hatten und daß auch bei Tageslicht, wenn auch sehr langsam, oft erst nach Tagen, die gleichen Reaktionen eintraten. Das kurzwellige UVL. ist somit für diese Reaktionen nicht erforderlich, da dieses ja durch Glas absorbiert wird.

Vorläufige Zusammenfassung.

In diesem ersten Teil ließ sich zeigen, daß der X-Faktor ohne Bakterientätigkeit aus Mineralsalzen nicht gewonnen werden kann. Es ließ sich zeigen, daß durch Bestrahlung von Ferrocyankalium und Manganchlorür sauerstoff-aktive Verbindungen hergestellt wurden und es konnte die Vermutung ausgesprochen werden, daß Stoffe, die die Fähigkeit der O-Uebertragung besitzen, (Peroxyde) zu dieser Aktivierung der Eisenverbindungen geeignet erscheinen. Die Bildung eines „anorganischen Vitamins" durch Bestrahlung von Eisen ließ sich aber in keinem Falle demonstrieren. Es war somit unbedingt notwendig, die Versuche auszudehnen auf die genauere Kenntnis desjenigen Stoffes, den wir bisher allgemein als V-Faktor bezeichnen, und es ist der Verdacht ausgesprochen, daß nur aus einer Kombination von V-Substanz und X-Substanz die Vitaminwirkung zu entstehen vermag.

2. Teil.

Der V-Faktor.

H. Ueber Phosphatide und ihren Einfluß auf das IB.-Wachstum.

Wasserlösliche Phosphatide. Aus den bisherigen Mitteilungen ist zu ersehen, daß die Angaben von Baudisch und Welo, es sei nur ein Faktor, belichtetes Eisen, für die Vitaminwirkung auf die IB. notwendig, auf den von mir experimentell eingeschlagenen Wege nicht zu bestätigen waren, und daß wir entsprechend unseren früheren Annahmen auch jetzt noch eines zweiten Faktors unbedingt bedürfen. Bisher ist es noch nicht gelungen, diesen Faktor chemisch zu definieren, sondern wir kennen nur sein Verhalten physikalischen und chemischen Reizen gegenüber und wissen daraus, daß er zur Gruppe derjenigen Stoffe gehört, die wir als Vitamine bezeichnen. Ich habe nun bereits früher mitgeteilt, daß es mir gelungen ist, diesen zweiten Faktor durch Extraktion von Pflanzenteilen (Kartoffeln, Rüben, Bananen usw.) bei tiefer Temperatur zu erhalten. Setzt man dieses Kartoffelwasser zu einer geringen, an sich unwirksamen Blutmenge, 1:20000, dann tritt üppiges Wachstum der IB. ein; setzt man es zu einem eisenhaltigen Agar, so wird das Ammenwachstum erheblich verstärkt, d. h. die Ammenbakterien haben die Fähigkeit, bei reichlichem Vorhandensein von V-ähnlichen Substanzen im Nährboden, in erhöhtem Maße die für den IB. notwendigen V-Stoffe zu bilden.

Durch die Veröffentlichungen von Grafe und seinen Mitarbeitern Horvat und Magistris bin ich dann auf eine Arbeit aufmerksam ge-

macht, die 1922 in Oslo erschienen ist: „Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen" von Hansteen Cranner. Nach dem Titel dieser Arbeit war nicht ohne weiteres zu vermuten, daß grundlegende Versuche über das Wesen der Vitamine hier mitgeteilt sein könnten. Aber mich machte auf den Wert für das hier behandelte Problem eine Tatsache aufmerksam: Cranner benutzte zur Gewinnung seiner wässerigen Extrakte eine Methode, die in den Grundzügen genau der von mir längst erprobten entsprach: er extrahierte Pflanzen (rote Rüben, Erbsen) mit destilliertem Wasser bei tiefer Temperatur und wies dabei das Uebertreten wasserlöslicher Phosphatide in dem klaren Dialysat nach. Bei der Aehnlichkeit unserer Methode, die sich nur durch das von mir angewendete kurze vorherige Erhitzen unterscheidet, durch das aber, wie ich früher zeigen konnte, die in der Tiefe des Materials liegenden V-Stoffe nicht geschädigt werden, wenn sie auch erst nach 3—5 Tagen austreten, glaube auch ich, daß bei meinen Versuchen immer wasserlösliche Phosphatide diejenigen Stoffe waren, mit denen ich Erfolge gehabt habe.

Die weiteren Mitteilungen Cranners sind für das Gesamt-Vitamin-Problem nun so wesentlich, daß ich die Arbeit hinsichtlich ihrer physiologischen Daten eingehend referieren muß, zumal sie an einer ziemlich entlegenen Stelle erschienen ist. Daß diese wässerigen Pflanzenextrakte auch Beziehungen zu dem Vitamin C haben, konnten Leichtentritt und ich bereits in unseren Versuchen über Bakterien und Ernährung zeigen: Es gelang uns, durch Gaben von täglich 40 ccm des Kartoffelwassers den Eintritt von Symptomen der Avitaminose des Meerschweinchens von 25 Tagen auf etwa 70 Tage hinauszuschieben, und auch dann trat kein typischer schwerer Skorbut, sondern ein ganz atypischer Verlauf ein. Anderseits haben wir aber auch nachweisen können, daß die wachstumsfördernden Stoffe für die IB. mit den Vitaminen, die Meerschweinchen und Tauben notwendig haben, zwar verwandt, aber doch nicht völlig identisch sind. Und in diesem Zusammenhang möchte ich daran erinnern, daß allmählich die Ansicht ausgesprochen ist, es gebe nicht nur artspezifische, sondern auch organspezifische Vitamine. Wie sich zeigen wird, kommt Cranner bei seinen Befunden über das Verhalten der Phosphatide zu der gleichen Vorstellung.

Cranner hat nachgewiesen, daß nicht nur die Zellwand, sondern auch die anliegende Plasmaschicht aus Lipoiden besteht, die in eigenartigen Beziehungen zu Phosphorsäure und zur Cellulose stehen. Außerdem fanden sich kleine Mengen von unverseifbaren Phytosterinen. Es ließ sich zeigen, daß durch Extraktion mit Wasser diese Stoffe austraten, und daß diese Vorgänge in exquisiter Weise von dem Metallionengehalt der Lösung abhängig war: „Es zeigte sich, daß, eine nicht zu niedrige Lösungstemperatur vorausgesetzt, die lipoidhaltigen, künstlichen Zellmembranen[1]) in 0,1—0,2 Mol. starken Lösungen von $CaCl_2$, KCl und NaCl immer viel weniger Wasser in sich aufnahmen, wenn sie von Kalziumionen, als wenn sie von Kaliumionen oder Natriumionen beeinflußt wurden: umgekehrt gaben sie aber in trockener Luft immer am meisten Wasser wieder ab, wenn sie im voraus mit Kalziumionen in Berührung gewesen waren. Die isolierten Zellmembranen verhielten sich also in bezug auf Wasseraufnahme und -abgabe unter dem Einfluß der genannten Ionen in ganz derselben Weise wie lebende ganze Pflanzen oder Pflanzenteile. Für den Stoffwechsel resultiert nach Cranner, „daß die Wände lebender Pflanzenzellen stark adsorbierende Eigenschaften besitzen müssen und daher auch bei den stofflichen Wechselwirkungen der Zellen eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen dürften. In ihrem Verhalten zu Lösungen müßten sie notwendigerweise den Kolloidgesetzen folgen . . ."

In weiteren Untersuchungen konnte er zeigen, „daß sowohl Wurzeln, als auch allerlei andere Zellgewebe der verschiedensten Pflanzen,

1) Es handelt sich um Versuche mit Zellmembranstoffen, die durch besondere Vorbehandlung von Plasma usw. befreit wurden.

auch in dem reinsten destilliertem Wasser und schon bei Lebenstemperaturen und bei vollem Leben, immer wasserlösliche als unlösliche Phosphatide massenhaft abgeben, daß diese Phosphatide nicht allein aus den Zellwänden, sondern auch aus den plasmatischen Grenzschichten stammen und hier für die Permeabilitätsverhältnisse der Zelle bestimmend sein müssen: endlich, daß diese Grenzschichten mit den Phosphatiden die Zellwände durchdringen und so mit diesen überall intim verbunden sind. Sehr merkwürdig ist nun der Befund, daß das Austreten der Phosphatide reversibel ist: Wenn man rote Rüben lange extrahiert, dann treten allmählich auch die roten Farbstoffe über, die Scheiben fangen an weich zu werden, das Leben der Zelle ist gefährdet. Dieser Zustand läßt sich umkehren durch Waschen der Scheiben und Verbringen in frisches Wasser bei Dunkelheit und niedriger Temperatur. Dann werden die Scheiben wieder turgeszent."

Die an das Lösungsmittel abgegebenen Phosphatide ließen sich dann durch Fällung mit Bleiazetat fraktionieren. Unter den zum Nachweis verwendeten Reaktionen möchte ich erwähnen, daß der Austritt von Glyzerin in üblicher Weise durch die Akroleinprobe geführt wurde, und daß Glyzerin regelmäßig nachgewiesen wurde. Diese Bemerkung ist von Wichtigkeit bzgl. meiner später zu schildernden Versuche.

Aus dem chemischen Teil der Arbeit sei erwähnt, daß Cranner als Spaltprodukte regelmäßig Phosphorsäure, Cholin, Glyzerin und Zucker fand. Eiweißreaktionen ergaben seine Extrakte niemals. Auch Bakterienverunreinigungen spielten keine Rolle. Die einzelnen Phosphatide zeigten Unterschiede gegenüber der Löslichkeit im Alkohol. Fast immer fanden sich in der Asche der Fraktionen nicht unbedeutende Mengen von Kalk, Magnesium, Kalium und Natrium. Salzionen konnten das Heraustreten der Phosphatide hemmen oder fördern, wobei der Kalk eine hemmende Wirkung spielte.

Cranner erwähnt dann aus einer Arbeit von W. Koch: „Die Lezithine und ihre Bedeutung für die lebende Zelle": „Während H-Ionen und Salze mit den zweiwertigen Kat-Ionen Mg, Ca, Sr, Ba, Co, Ni, Fe", Zn, Cd, Cu und Pb alle einen Niederschlag gaben, der sich langsam gelatinös absetzte, verursachten Salze mit den einwertigen Kat-Ionen, Na, K, NH_4 und Li, oder mit den dreiwertigen Kat-Ionen Fe", Al und Au keine Fällung, selbst in konzentrierter Lösung." Koch konnte also einen ausgesprochenen Gegensatz zwischen ein- und dreiwertigen, gegenüber den zweiwertigen Kationen konstatieren. Er zieht aus seinen Versuchen die wichtigen Schlüsse: „Alle die obigen Tatsachen weisen darauf hin, daß es sich beim Lezithin nicht um chemische Reaktionen, wie z. B. die Bildung von unlöslichen Salzen, handelt, sondern um physikalische Niederschlagsreaktionen, wahrscheinlich elektrischer Natur . . .". „Wenn der Fortbestand des Lebens in einer Zelle, wie G. Quincke und Loeb annehmen, von dem Zustande der Kolloide oder deren Viskosität abhängt, so ist es leicht ersichtlich, wie die antagonistische Wirkung des niederschlagbildenden Kalziums auf das auflösende Natrium gerade die richtige Viskosität herbeiführen kann, welche für eine besondere Zelle nötig ist. Zuviel Na und zuviel Ca zerstört das Gleichgewicht, und die Zelle hört auf zu leben, der Zusatz der richtigen Menge, entweder des Ca oder des Na, ermöglicht dann wieder die Fortsetzung des Lebensprozesses." (Zit. nach Cranner.)

Cranner stellte dann weiter fest, daß auch die Zellwände allerlei nicht kutizierter, lebender Parenchymgewebe zu jeder Zeit von lipoiden Stoffen durchdrungen seien und vermutet, daß solche Lipoide die einzigen Baustoffe dieser Grenzschichten bilden. Diese Stoffe sind intakt nur bei Lebenstemperaturen und werden durch Erhitzen zerstört. (Eine gewisse Hitzebeständigkeit müssen sie aber doch wohl, wie aus meinen oben erwähnten Versuchen hervorgeht, haben. Es ist wohl anzunehmen, daß in den oberflächlichen Zellagen diese Substanzen durch das von mir angewendete Erhitzen zerstört wurden, und daß darauf der Unterschied in der Zeit besteht, in der Cranner seine Phosphatide erhielt, nämlich bereits nach 24 Std., während ich 3—5 Tage brauchte.)

Nach Traube gehen nun immer Permeabilitätsvermögen und Kapillaraktivität (Oberflächenspannung) eines Stoffes miteinander parallel. Und Cranner fand, daß seine wässerigen Extrakte ebenfalls eine große Oberflächenaktivität und Viskosität (Schaumbildung) hatten. Das gleiche habe ich auch beim Filtrieren meiner Extrakte beobachten können, da immer starke Schaumbildung einsetzte. Es scheint demnach in der Tat, als ob die Oberflächenaktivität eine Grundeigenschaft der Phosphatide

sei, und als ob auf dieser Eigenschaft ihre Fähigkeit beruht, durch die Zellwände hindurchzuwandern. Und hier darf ich auf die Arbeiten von v. Hahn hinweisen, der seinerzeit die Theorie aufgestellt hat, daß die Vitaminwirkung von der Oberflächenspannung der wässerigen Pflanzenextrakte abhängig sei. Es will scheinen, als ob er mit diesem Befund eine wesentliche Eigenschaft der Vitamine (sprich in diesem Zusammenhang: Phosphatide) aufgefunden hat.

Von chemischen Eigenschaften der Phosphatide seien erwähnt, daß sie „alkalische Affinitäten (für Säuren), saure Affinitäten (für Alkalien) und alkaloidische Affinitäten (für Salze) haben, und daß diese Affinitäten durch große Mengen Wasser überwältigt werden"; diese Verwandtschaft für Wasser wird aber bei einigen Phosphatiden durch Metalle oder deren Oxyde, z. B. Pb, Cu, Mg, Fe und sogar durch Ca und K überwältigt; oder mit anderen Worten: es entstehen bei Gegenwart dieser Stoffe dem Wasser gegenüber beständigere Verbindungen. Bezüglich der Mannigfaltigkeit der Reaktionen kommt auch Thudichum zu dem Schluß, „daß die Phosphatide in bezug auf die von ihnen geübten chemischen Verwandtschaften eine Verschiedenheit zeigen, wie sie keine andere Klasse chemischer Verbindungen in der Natur entwickelt". „Man könnte deshalb schon a priori annehmen, daß es Phosphatide und nicht Eiweißstoffe sind, welche die den Gewebeaustausch regulierenden Grenzschichten der lebenden Zelle aufbauen." „Und wahrscheinlich wird es sich zeigen, daß diese Phosphatide ihren Haupteigenschaften nach dieselben sind, oder diesem jedenfalls stark ähneln", wie die Lezithine im Gehirn und Nerven von Mensch und Tier, und wahrscheinlich gibt es auch bei den Pflanzen nicht allein art-, sondern auch organ- und gewebeeigene Phosphatide". Auf diese Vermutungen konnte ich schon früher hinweisen.

„Vielleicht hängt das verschiedene Verhalten verschiedener Arten und Gewebe fremden Substanzen gegenüber, oder die Unfähigkeit fernverwandter Zellen zusammenzuwachsen, eben von solcher Spezifität der Zellgrenzschichten ab." (Daß dieser Satz von großer Bedeutung für die Gewebezüchtung und damit für die Geschwulstlehre werden kann, sei hier nur kurz erwähnt.)

Cranner schließt aus diesen Befunden und Ueberlegungen: „Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Rolle der Phosphatide diejenige ist, als Vehikula oder „Lastträger" zu dienen, welche Stoffe in die Zelle hinein und aus der Zelle heraus durch die von den unlöslichen Phosphatiden in jeder Zelle gebildete periphere Barriere tragen können und sollen. Dann müssen sie aber auch die stofflichen Wechselbeziehungen zwischen den Wurzeln und der Erde bedingen."

„Aber nicht allein mit Bezug auf den Transport von festen Stoffen scheinen sie von Wichtigkeit zu sein. Da immer zwei von ihren Fraktionen, nämlich die mit Blei und die weder mit Blei noch mit Alkohol fällbare, immer ungesättigt, also autoxydabel waren, haben sie wahrscheinlich auch die bedeutungsvolle Aufgabe, Sauerstoff aus der Umgebung in die Zellen aller unterirdischen oder in Wasser untergetauchten Organe (Wurzeln), sowie in alle Zellen überhaupt, hineinzutragen, also auch als Sauerstoffüberträger bei dem Betriebsstoffwechsel zu dienen."

„Endlich wäre es wohl eine berechtigte Frage, **ob und in welchem Maße es irgendeine Relation zwischen den wasserunlöslichen und -löslichen Vitaminen und meinen Phosphatidfraktionen gäbe?**"

Wir kommen hier also nach einem längeren Umweg zu der Kernfrage, deretwegen ich diese Arbeit ausführlich referiert habe. Betonen muß ich aber, daß ich hier nur einen verschwindenden Bruchteil des Gedankenreichtums dieser Arbeit verwenden konnte, und daß ich auf das Studium des Originals hinweisen muß.

Grafe hat dann mitgeteilt, daß es Cranner, der über seine Arbeiten verstorben ist, gelungen sei, mit bestimmten Phosphatiden sowohl Skorbut wie Beriberi zu heilen. Inwieweit sich diese Angaben bestätigen werden, läßt sich noch nicht absehen. Jedenfalls rechtfertigen Cranners Arbeiten und seine theoretischen Erwägungen den Versuch, die interessanten Stoffe in Beziehung zum Vitamin-Problem zu bringen. Daß ich mich bei meinen bisherigen Befunden besonders gern

mit diesen Versuchen beschäftigt habe, da ich von vornherein mit Sicherheit einen positiven Erfolg voraussah, ist wohl verständlich. Erwähnen möchte ich aber, daß die von Grafe ausgesprochene Ansicht, es könne sich bei diesen Phosphatiden um „die Vitamine" handeln, doch bedenklich ist. Bereits oben habe ich erwähnt, daß wir auf den Gedanken kommen müssen, es gäbe keine Vitaminstoffe, sondern nur aus eigener Kombination von O-aktiven Mineralien und einem sogenannten V-Stoff entstehe die Vitaminwirkung.

Zum Verständnis meiner späteren Versuche und zur klaren Verbindung mit den Tiervitaminen bedarf es noch eines Exkurses über unsere heutige Auffassung des Vitaminproblems und über Hinweise auf seinen Zusammenhängen mit UVL., Mineralsalzen und Cholesterin[1]).

I. Neuere Anschauungen über Avitaminosen, in Zusammenhang mit dem Einfluß des UVL.s auf diese.

Durch die Versuche von Heß und Steenbock, denen es gelungen ist, durch Bestrahlung von Lebensmitteln, pflanzlichen Oelen und Cholesterin diesen Substanzen antirachitischen Charakter zu verleihen — Beobachtungen, die inzwischen von Beumer, György u. a. bestätigt sind —, ist der Gedanke begründet, daß der früher von Huldschinski beobachtete Einfluß auf die menschliche Rachitis nicht auf einer direkten Beeinflussung des Stoffwechsels durch Licht, sondern erst auf einer Aktivierung des Cholesterins im Körper beruht. Eine Klärung, wie auf diesem Wege der Kalk- und Phosphorstoffwechsel geregelt wird — ich erinnere hier vor allem an die Arbeiten von Stepp — ist dagegen bisher noch nicht möglich gewesen. Zurzeit müssen wir uns mit der Feststellung begnügen, daß der Serumkalkspiegel unter dem Einfluß des UVL.s steigt, und daß die Knochenbildung abhängig ist von der richtigen Relation Phosphor : Kalk[2]). Auf Grund der eigenartigen Befunde von Heß und Steenbock hat Funk eine Unterabteilung der Vitamine vorgenommen, indem er eigentliche „Vitamine" und „Vitasterine" unterscheidet. Auch andere Avitaminosen sind auf Grund dieser Versuche mit der UVL. behandelt. Dabei hat sich herausgestellt, daß (Takahashi) dem Meerschweinchenskorbut gegenüber eher eine Verkürzung der Lebensdauer eintrat; zum mindesten war die Bestrahlung ohne jeden Einfluß. UVL. wirkte ähnlich auf Beriberi bei Tauben. Die Hglb.-Abnnahme wird zwar bei den Tauben etwas verzögert, für die avitaminösen Blutungen bleibt aber das UVL. ohne jeden Einfluß. Takahashi schließt auf eine gleichsinnige Wirkung des Vitaminmangels und der Bestrahlung. Rachitische Veränderungen sind bei seinen Versuchen aber nicht zustande gekommen, was ja auch mit den Befunden von Heß und Steenbock übereinstimmt. Es will scheinen, als ob somit ein Gegensatz zwischen den Avitaminosen der fettlöslichen Vitamine und der wasserlöslichen Vitamine besteht. Besonders die Arbeiten der Bickelschen Schule erscheinen geeignet, hier wertvolle Aufschlüsse für die Zusammenhänge mit dem Stoffwechsel zu geben. Die von ihm nachgewiesene Herabsetzung des Gaswechsels weist doch auf Zusammenhänge mit dem O-aktiven Eisen hin, und daß in der Tat bei dem Meerschweinchenskorbut sich auch beim Bakterienzüchtungsversuch eine Verminderung des Eisengehalts des Blutes nachweisen ließ, haben Leichtentritt und ich früher zeigen können. Bickel sieht zwischen Vitaminwirkung und Strahlung das Gemeinsame in einer dynamischen Wirkung ohne Zuführung von Brennwerten. Es ist zu wünschen, daß seine Versuche an Tieren auch auf den Bakterienstoffwechsel übertragen werden, da wohl anzunehmen ist, daß bei den einfacheren Versuchsbedingungen sich hier leichter die Zusammenhänge aufdecken lassen werden. Bezüglich des schnelleren Todes der bestrahlten Skorbutmeerschweinchen urteilt Alpern, „daß die durch die Einwirkung des Lichtes noch ge-

---

1) Weichardts Angaben über den spezifischen Einfluß abiureter Körperextrakte auf Bakterienwachstum dürften wohl auch in Zusammenhang mit den Phosphatiden zu bringen sein. Der Phosphorgehalt seiner Extrakte betrug 0,84 Proz. organisch, 0,17 Proz. anorganisch gebundenen Phosphor.

2) Hier muß man an die oben erwähnten Beziehungen des Kalks zu den anderen Mineralien denken (Cranner).

steigerte Stärke des Dissimilationsprozesses in den Zellen des der Synthese unfähigen avitaminösen Organismus diesen zum beschleunigten Exitus letalis führt". Ueber Veränderungen im intermediären Stoffwechsel und der Strahlenwirkung (Röntgen), besonders beim Kohlehydratstoffwechsel berichtet Tsukamoto; er fand ihn ähnlich dem Stoffwechsel bei Avitaminosen. Wenn ich dies erwähne, so tue ich das wegen der oben erwähnten Befunde von Goldstein und Gassul, daß sich die unsichtbaren Strahlen im Gewebe in ein kurzwelliges UVL. verwandeln sollen. Bei der Avitaminose der Tauben ist nach Tsukamoto der Zuckergehalt immer geringer mit fortschreitender Krankheit, bei Meerschweinchen aber gesteigert. Die Cholesterinmenge wird verringert oder bleibt im Status quo ante.

Es ist in letzter Zeit, insbesondere auf Grund der Arbeit von Baudisch und Welo, die, wie oben gezeigt, sich nicht bestätigen läßt, der Gedanke ausgesprochen, „den Begriff der Vitamine und Avitaminosen überhaupt fallen zu lassen". E. Müller sieht „in dem Begriff ‚Vitamine' und ‚Avitaminosen' gewissermaßen nur eine Arbeitshypothese, um unbekannte Nährstoffverbindungen in ihrer Wirkung zusammenzufassen". Es gebe deshalb kein eigentliches Vitaminproblem, sondern es gebe nur die Erforschung des Zustandes altbekannter Stoffe, — vielleicht in Verbindung mit gewissen Begleitstoffen, die früher unbeachtet blieben — die diese Stoffe für den Stoffwechsel geeignet machen, und er vermutet in lichtbedingten physikalischen Zustandsänderungen komplexer Metallverbindungen, ebenso wie Baudisch und Welo, „die Vitamine". Bereits früher habe ich in einer Bemerkung zu diesen Vorschlägen vor einer voreiligen Schlußfolgerung gewarnt, da inzwischen meine Versuche einen ganz anderen Weg gezeigt haben. Es dürfte ratsam sein, die beiden jetzt eingeführten Begriffe „Vitamine" und „Avitaminosen" ruhig beizubehalten als übergeordnete Begriffe für „Mangelkrankheiten". Der Amin-Charakter ist den Vitaminen ja schon längst genommen, und es dürfte deshalb keine wesentliche Denkschwierigkeit bedeuten, wenn wir dieses alte eingebürgerte Wort auf Grund der neuen Ergebnisse wieder mit einem neuen Inhalt erfüllen. Damit wird auch das Verdienst der ersten Forscher auf diesem Gebiete, Holst und Froehlich, Funk und Stepp gebührend bewahrt. Ob man, wie Kopaczewski aus ähnlichen Gedankengängen heraus wie E. Müller, statt von Vitaminen von einem „vitaminoiden Zustand der Materie" spricht, oder ob man bei dem alten Worte bleibt, spielt für die endgültigen Resultate keine große Rolle.

Wollten wir in diesem unbekannten Gebiet weiterkommen, dann scheint es notwendig, daß wir nicht neue Worte, sondern neue Erscheinungen auffinden, die sich nach Möglichkeit irgendwie mit schon bekannten Erscheinungen in Parallele setzen lassen, und die deshalb leichter erforschbar sind. Und hier hat sich in der Tat eine sehr merkwürdige Eigenschaft gefunden, daß gleichlaufend mit der Vitaminwirkung der bestrahlten Stoffe (Heß und Steenbock) diese Stoffe eine vorher nicht vorhandene „Photoaktivität" bekommen. Das gilt von Tran, Nahrungsmitteln, Cholesterin, Glyzerin (Euler, Radzsiszewski) und anderen Lipoiden. Hier bestehen also Zusammenhänge mit der von Schläpfer früher nachgewiesenen Photoaktivität des Blutes. Als Erklärung nimmt man entweder eine neu auftretende Strahlung oder eine Bildung von chemisch wirkenden gasförmigen Stoffen an. Špinka vermutet das Auftreten von toxischen, aldehydischen oder ketonischen Produkten. Charakteristisch für den Einfluß der Strahlen ist, daß nach 8 Std. Bestrahlung die Aktivierung wieder aufhört (Heß, Steenbock, Špinka und Zilva). Bisher gelten aber diese Einflüsse nur für das antirachitische Vitamin D (Mc Collum), für das antixerophthalmische gelten andere Bedingungen, und für das Antiberiberivitamin wies Špinka nach, daß es bei saurer und genau neutraler Reaktion durch UVL. nicht verändert wird. Für das antiskorbutische Vitamin sind die Verhältnisse noch nicht geklärt. Wir wissen nach den Angaben von Mc Collum und Pitz nur, daß Mineralöl und Phenolphthalein skorbutheilend wirken sollen. Und für die Frage des Bakterienwachstums sei in diesem Zusammenhange die Arbeit von Ayers und Mudge erwähnt, die bei Zusatz von Fetten und Oelen Wachstumsbeschleunigung von Streptokokken erreichen konnten. Sie verwendeten dabei Olivenöl, Sesamöl, Chaulmoograöl, aber auch Mineralöl, Vaselin und Paraffin. Auch hier sind die näheren Zusammenhänge noch ungeklärt. Nach neueren Arbeiten (Büttner, Haag) will es scheinen, als ob diese Stoffe für manche Bakterien vielleicht eine besonders gut ausnutzbare C-Quelle sind. Sie schließen dieses wenigstens aus ihren Versuchen mit Paraffinnährböden.

K. Ueber Lezithin.

Im Vorhergehenden habe ich erwähnt, daß die neueren Ergebnisse der Vitaminforschung auf einen engen Zusammenhang zwischen Lipoiden, Phosphatiden und den „Vitaminstoffen" hingewiesen haben. Dabei findet sich, daß wir fast immer bestimmte Stoffe wiederholt angeführt haben, Stoffe, wie sie auch im Blut und in den Körperteilen vorkommen, ohne daß es bisher mit Sicherheit gelungen ist, ihre Rolle für die Lebensvorgänge genau abzugrenzen. Zu diesen Stoffen gehört in erster Linie das Lezithin, das auch zu der Gruppe der Lipoide gehört. Es schien mir möglich, durch Anwendung von Lecithinzusatz zum Nährboden, natürlich nur in gemeinschaftlicher Beimpfung von IB. und Ammenkeimen, hier Zusammenhänge aufzudecken. Das Cholesterin verbot sich wegen seiner Nur-Alkohollöslichkeit und der dadurch möglichen hemmenden Wirkung, und im Lecithin hatte ich reine Präparate zur Verfügung[1]), die ein sicheres Arbeiten gestatteten. Es wäre natürlich angenehmer gewesen, mit den Phosphatiden von Cranner im reinen Zustande zu arbeiten, doch liegen diese noch nicht fertig vor; ich war mir klar, daß die Versuche mit Lecithin eventuell nur einen symbolischen Wert haben würden. Immerhin schien mir ihr reiches Vorkommen in pflanzlichen Geweben wie Leguminosen, die sich nach Cranner sehr zur Gewinnung von Phosphatiden eignen — Töpler wies 0,16—0,26 Proz. nach — eine genügende Berechtigung für derartige Versuche zu geben. Die Lezithine zerfallen mit Säuren und Basen nach Röttgers, besonders bei Barytwasser in Fettsäuren (Palmitin-, Stearin- oder Oelsäure), Glyzerin-Phosphorsäure und Cholin. Dabei kann nach E. Schmidt auch eine dem Cholin nahestehende Base entstehen, das Neurin, das sich auch bei Fäulnis oder durch bakterielle Einwirkung auf Cholin und Lecithin bei genügendem Luftzutritt zu bilden vermag. Es war somit also auch ein Hinweis auf das mögliche Auftreten wirksamer bakterieller Spaltungsprodukte gegeben. Das Lezithin selbst wird durch UVL. anscheinend ebenfalls gespalten, durch Radium oder Thorium X haben Neuberg und Karczag dagegen eine Spaltung nicht feststellen können.

Der Wert des Lecithins für die Ernährung ist, wie oben erwähnt, noch nicht ganz sicher bekannt. Röhmann vermutet nach seinen Versuchen eine Spontanbildung des Lecithins im Tierkörepr. Andere Autoren, wie Mc Collum, haben bereits aber auf einen Zusammenhang mit Mineralverbindungen hingewiesen und haben sich gefragt, ob der in der vitaminfreien Nahrung fehlende Stoff nicht eine lecithinähnliche Verbindung sei, und ob die anorganischen Salze vielleicht nur in Verbindung mit organischen Stoffen resorbierbar seien. Besonders bedeutungsvoll sind die Versuche über die Steigerung der Oxydationsvorgänge bei Gemischen von Eizusatz und Lezithin von Warburg, die für die vorliegenden Fragen von größter Bedeutung werden dürften.

Für meine Versuche stellte ich mir folgende Fragen:

1) Läßt sich durch Zusatz von bestrahltem Lezithin nachweisen, daß das Influenza-Wachstum ermöglicht wird?
2) Kann dieses bestrahlte Lezithin ohne den X-Faktor auskommen?
3) Ist überhaupt eine Bestrahlung notwendig?
4) Lassen sich irgendwelche Veränderungen im Lezithin nach der UVL.-Bestrahlung auffinden?
5) Welche Beziehungen hat das bestrahlte Lezithin zu dem durch UVL. aktiv gemachten Ferrozyankalium, der Vorform des X-Faktors?
6) Kann man mit Spaltprodukten des Lezithins ähnliche Wirkungen erreichen, wie mit dem bestrahlten Lezithin selbst?

Als mögliches Spaltprodukt wählte ich hier das Akrolein, das aus dem Glyzerinkern der Phosphatide und des Lezithins in gleicher Weise entstehen kann. Mit dem oben erwähnten und vielleicht auch in Frage kommenden Cholin und Neurin habe ich noch keine Versuche angestellt.

1) Als Präparate verwendete ich das Lecithin von Poulence-Frère, und als zweites Präparat Lecithin von Friedrich Witte-Rostock, das wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Dr. Dragendorf verdanken. Alle Versuche wurden mit beiden Präparaten angestellt und ergaben gleiche Resultate.

L. Eigene Versuche.

Versuch 12. Um überhaupt festzustellen, ob eine Beziehung zwischen UVL. und V-Faktor in der von mir benutzten Bestrahlungszeit von 1 Std. bestand, habe ich die geklärten und filtrierten wässerigen Pflanzenextrakte in 20 ccm Entfernung mit der HS bestrahlt. Sie blieben in der Zeit bis zu 45 Min. voll wirksam bei der Prüfung mit dem Blut-X-Faktor zusammen. Ich wählte daraufhin zur Bestrahlung des Lezithins Zeitspannen bis zu 30 Min. Die nähere Versuchstechnik war folgende: 1 g Lezithin, in späteren Versuchen 0,1 g wurden in destilliertem Wasser bis zur kolloidalen Lösung verrieben. Dann wurden Verdünnungen von 1/10 und 1/100 Proz. bestrahlt. Von diesen Lösungen wurde 1 ccm zu 15 ccm Nähragar zugesetzt und zusammen mit entweder 3 Oesen konzentrierter Blutkörperchenlösung oder mit bestrahlten, bzw. unbestrahlten Ferrocyankalium 1 Min. im Wasserbade erhitzt.

Versuch 13. Die folgende Tabelle zeigt einen Versuch, in dem Lezithin gekocht und ungekocht gegenüber dem Blut-X-Faktor ausgewertet ist. Eine Bestrahlung des Lezithins hat hier noch nicht stattstattgefunden.

Tabelle X.

Nährboden	IB allein	rosa Luftkokkus	Baz. Friedländer
Lezithin $^1/_{10}$ Proz.	—	(+)	(+)
dasselbe + X-Faktor	—	+++++	+++++
wie 1, aufgekocht	—	(+)	(+)
wie 2, aufgekocht	—	+++++	+++++
X-Faktor allein	—	++++	++++

Der verwendete Agar gab deutliche Eisenreaktion, war also für diesen Versuch nicht sehr geeignet. Der Zweck dieses Versuches war auch nur festzustellen, ob durch den Lezithinzusatz eine Wachstumsverstärkung durch die Ammenkeime gegenüber dem X allein stattfand. Diese ist auch zu konstatieren. Gleichzeitig findet sich, daß kein Unterschied zwischen Kochen und Nichtkochen des Lezithins besteht.

Versuch 14. In einem zweiten Versuch prüfte ich bestrahltes Ferrozyankalium und bestrahltes Lezithin in ihren gegenseitigen Beziehungen zu vorläufiger Orientierung. (Siehe Tab. XI, S. 130.)

Es geht hervor, daß die IB allein nicht wachsen, also weder X- noch V-Faktor ohne Ammentätigkeit vorhanden sind. Dagegen zeigt sich eine wesentliche Verstärkung bei gemeinsamer Bestrahlung beider Lösungen, die darauf schließen läßt, daß der X-Faktor annähernd optimal hergestellt sein mußte, sonst wäre das Riesenwachstum um den Friedländer-Bazillus, und um dieses handelte es sich, nicht zu verstehen. Nach 30 Min. war die Wirkung beim Friedländer-Bazillus nicht mehr vorhanden.

Versuch 15. Hierdurch war allgemein festgestellt, daß irgendeine Wachstumsförderung eintrat und daraufhin wurde folgender sy-

Tabelle XI.

Nährboden in Minuten	IB allein				rosa Luftkokkus				Baz. Friedländer			
	0	5	15	30	0	5	15	30	0	5	15	30
Ferrocyankalium $^1/_{10}$proz., bestrahlt + unbestrahlt $^1/_{10}$proz. Lezithin, je 1 ccm zu 15 ccm Agar	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	(+)	—
Ferrocyankalium unbestrahlt, + Lezithin bestrahlt, je 1 ccm zu 15 ccm Agar	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—
Lezithin und Ferrozyankalium, gemeinsam bestrahlt, 2 ccm des Gemisches zu 15 ccm Agar	—	—	—	—	+	++	++	+	—	++	++	—

stematischer Versuch angestellt, dessen einzelne Phasen ich in den anliegenden photographischen Aufnahmen festgehalten habe (Taf. 2—5).

Als Nährbodenzusätze verwendete ich wieder 1 ccm der $^1/_{10}$proz. Lösungen von Ferrocyankalium und Lezithin zu 15 ccm Agar. Die erste Reihe bekam nur Ferrocyankalium (Tafel 2). In der zweiten Reihe wurde zu diesem bestrahlten Ferrocyankalium unbestrahltes Lezithin zugesetzt (Tafel III), die dritte Reihe bekam unbestrahltes Ferrocyankalium und bestrahltes Lezithin (Tafel IV) und in der vierten Reihe wurden die gemeinsam bestrahlten Lösungen (2 ccm des Gemisches) geprüft (Tafel V).

Resultate. Sämtliche Aufnahmen sind mit der Hinterlinse des Leitzschen Mikro-Summars 24 mm, F: 4,5 gemacht und haben eine 15fache Vergrößerung. Die Dunkelkolonie in der Mitte ist die Kolonie des rosa Luftkokkus, die darum liegenden Influenza-Kolonien sind hell und durchsichtig.

Tafel II zeigt, daß sich anfangs bei dem unbestrahlten Ferrocyankalium nur wenige IB-Kolonien, als leichte Vorwölbungen erkennbar, an den Rand der Kokkenkolonie angeschmiegt haben. Bereits nach Bestrahlung von 5 Min., noch mehr nach 15 Min. vermehren sie sich und nach 30 Min. tritt entfernt vom Rande IB-Wachstum auf. Bei diesen Versuchen wurde nur der X-Faktor beeinflußt und verbessert. Der V-Faktor, der von der Amme geliefert wurde, blieb überall der gleiche. Diese Bilder entsprechen übrigens auch den Befunden im ersten Teil. Deshalb habe ich von einer Illustration damals abgesehen. Bemerkenswert ist, daß auch die Kokkenkolonie mit der Zunahme der Bestrahlung sich vergrößert, also auch bessere Wachstumsbedingungen findet. Für die V-Produktion ist aber diese Größenzunahme nicht von Bedeutung, wie ich bei meinen zahlreichen Versuchen gefunden habe. Nicht die Größe der Kolonie, sondern die Form des X-Faktors spielt eine Rolle für das Wachstum der IB.

Auf **Tafel III** zeigt sich der Befund mit Zusatz von bestrahltem Ferrocyankalium und unbestrahltem Lezithin. Von Anfang an steigend mit der Dauer der Bestrahlung (0, 5, 15 und 30 Min. bestrahlt), ist das Wachstum der IB durch den Lezithinzusatz gegenüber der Reihe 1 verstärkt. Neben einem dichten Wall von IB-Kolonien treten auch Riesenkolonien in weiterer Entfernung auf (s. Bild 8). Gleichzeitig tritt auch hier Vergrößerung der Luftkokken-Kolonie auf. Wir müssen

annehmen, daß dieser geringe Zusatz von Lezithin den Kokken hier die Möglichkeit zu einer größeren Farbproduktion gegeben hat, ebenso wie früher durch Zusatz von Bazillus Friedländer-Emulsion und Kartoffelwasser das Ammenwachstum auf einem eisenhaltigen Nährboden verstärkt wurde. Also nicht das Lezithin als solches ist das wirksame Prinzip, sondern ein aus diesem durch die Kokken gebildeter Stoff, der wahrscheinlich zu den Phosphatiden in Beziehung steht.

In **Tafel IV** findet sich unbestrahltes Ferrocyankalium und bestrahltes Lezithin. **Hier findet sich die überraschende Tatsache, daß das bestrahlte Lezithin die gleiche Wirkung auf das Ferrocyankalium hat wie die UVS.** Dieser Befund ist äußerst bemerkenswert. Haben wir doch in ihm ein Analogon zu der durch UVL. hervorgerufenen antirachitischen Eigenschaft des Cholesterins. Und wir haben gleichzeitig einen wertvollen Hinweis gewonnen, daß das Phosphatid nicht auf den Bazillus allein wirkt, sondern erst auf dem Umweg über das von ihm aktivierte Eisen. Wenn es gelang nachzuweisen, auf welcher neu erworbenen Eigenschaft des Lezithins diese Wirkung beruhte, dann mußte damit ein ganz neuer Gesichtspunkt für das Verständnis des Vitaminproblems gewonnen werden.

In der **Tafel V** findet sich der Einfluß der HS. auf die gemischte Lösung Ferrocyankalium mit Lezithin (je 5 ccm). Hier tritt schon von Anfang an ein starkes Ammenwachstum auf, das nach 30 Min. den höchsten überhaupt beobachteten Grad erreicht. Daß bereits schon ohne Bestrahlung in dem ersten Bilde das Ammenwachstum so kräftig ist, beruht wohl auf dem Einfluß des Tageslichtes auf die wässerige Lösung, in der die Wirkungen wesentlich intensiver sein müssen, als in dem Agargel.

Diese Versuche habe ich 5mal wiederholt und erhielt immer, mit leichten Schwankungen, dieselben Resultate, so daß die Bilder auf den Tafeln als Typen für diese Erscheinungen gelten dürften.

Nachdem so in den Grundzügen die Beziehungen zwischen Lezithin und Ferrocyankalium festgestellt waren, handelte es sich darum, die Wirkungsweise zu erklären und zwar, ob hier das Lezithin eine Strahlenwirkung oder eine chemische Wirkung auf das Ferrocyankalium ausübte.

Ueber die Wirkungsweise des Lezithins. Wir wissen aus den Versuchen des ersten Teils, daß die Rolle des UVL. dem Eisen gegenüber in der Herstellung einer sehr labilen Oxydul = Oxyd-Verbindung bestand, infolge Uebertragung von O auf das zweiwertige Eisen. Aus dem eben erwähnten Versuch müssen wir folgern, daß auch das bestrahlte Lezithin diese gleiche O-übertragende Wirkung entfaltet. Bezüglich des V- und X-Faktors wissen wir aber auch, daß weder das bestrahlte Ferrocyankalium noch das bestrahlte Lezithin dem einen von beiden entspricht, sondern daß erst durch die Tätigkeit von Bakterien die endgültig wirksamen Stoffe hergestellt werden. Und aus den Crannerschen Versuchen geht hervor, daß wir diese Stoffe in den Phosphatiden zu sehen haben, soweit der V-Faktor in Frage kommt. Wir wissen aber auch aus den Versuchen von Cranner, daß diese Phosphatide die Fähigkeit haben, Mineralien in die Zellen

zu transportieren. Läßt sich nun nachweisen, daß aus diesen selben Phosphatiden Spaltungsprodukte gebildet werden, die ebenso wie UVL. und bestrahltes Lezithin O-aktivierend auf Mineralien wirken können, dann erscheint es durchaus im Bereiche der Möglichkeit, daß wir damit dem Wesen der wachstumsfördernden Substanz nahekommen. Es handelte sich zunächst darum, Spaltungsprodukte, denen diese Fähigkeit zukommen könne, in dem bestrahlten Lezithin nachzuweisen. In den Neubergschen Arbeiten finden wir den Hinweis, daß Aldehyde und Ketone als Spaltprodukte bei UVL. auftreten können, und wir wissen, daß auch aus Phophatiden Aldehyde, wie das Acrolein entstehen können. Zum Nachweis der Aktivierung gab es zwei Möglichkeiten, einesteils die photographische Platte und andererseits die chemische Aldehydreaktion mit Natriumsulfit-Fuchsin, dem Endoagar.

Ich erwähnte bereits oben, daß es bisher noch nicht geklärt ist, worauf die Beeinflussung der photographischen Platten durch bestrahltes Cholesterin beruht. Haxthausen hat eine Radioaktivität ausschließen können. Auch er denkt an Spaltungsprodukte in Dampfform, an Superoxyde oder Produkte aus Lipoiden.

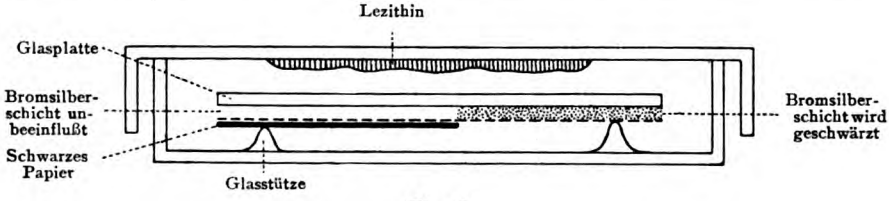


Fig. 2.

Versuch 16. Versuche mit der photographischen Platte.

Bei meinen Versuchen habe ich finden können, daß unbestrahltes Lezithin bereits eine ganz geringe Wirkung auf die photographische Platte hat, und daß diese Wirkung durch Bestrahlung erheblich gesteigert wird. Auch wäßrige Pflanzenextrakte, die die Phosphatide enthalten, ergeben eine entsprechende Wirkung auf die photographische Platte. Durch längeres Kochen konnte diese Wirkung verringert werden und ließ sich gelegentlich nach langer Bestrahlung wiederherstellen. Die Wirkung trat aber nur auf dem Teil der photographischen Platte ein, der nicht durch ein Deckmaterial von der Luft abgeschlossen war, und in einer Versuchsanordnung, wie sie hierunter schematisch wiedergegeben ist, konnte bewiesen werden, daß keine Strahlenwirkung durch Glas, sondern nur Lufteinfluß direkt auf die Schichtseite, also eine gasförmige Substanz, die überall hindringen konnte, die Ursache für die Beeinflussung der photographischen Platte war. Die Versuchsanordnung selbst wird durch die Zeichnung erklärt.

Versuch 17. Mit diesem Befunde wurde die erste Frage, ob von dem bestrahlten Lezithin eine Strahlenwirkung ausging, verneint und wurde es auch weiter durch Versuche an der lichtelektrischen Kaliumzelle, die in dem Physikalisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule von Herrn Dr. Suhrmann und seinen Mitarbeitern liebenswürdigerweise vorgenommen wurden.

Versuch 18. Von chemischen Spaltungsprodukten wäre eventuell H_2O_2 in Frage gekommen, doch ließ sich dieses durch die negative Reaktion mit Titanschwefelsäure ebenfalls ausschalten.

Aldehydnachweis. Versuch 19. Es blieben somit nur noch Versuche über die Wirkung aldehydartiger Spaltungsprodukte übrig. Zu diesen benutzte ich den Endo-Agar.

Versuch 20. Auf saubere Glasplatten wird mit Glasspatel Lezithin in dünner Schicht aufgetragen. Darüber wird eine Petri-Schale mit Endo-Agar gesetzt, nachdem vorher ein steriler Objektträger fest auf die Oberfläche zwecks Luftabschlusses aufgedrückt ist. Die Endo-Platte wird dann mit Plastilin von außen an der Glasplatte befestigt und das Ganze kann 24—48 Std. in den Brutschrank.

Befund. Innerhalb der 48 Std. im Dunkeln war zunächst keine Veränderung eingetreten. Darauf ließ ich diese Platten zur Hälfte abgedeckt

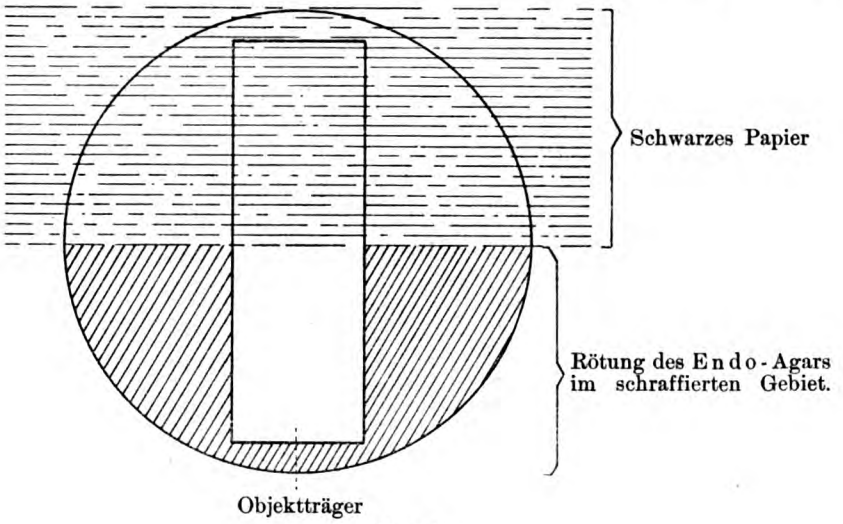


Fig. 3.

mit schwarzem Papier, derart daß das Papier über die Hälfte des Objektträgers ging, bei Tageslicht stehen. Es zeigte sich zunehmend nach einigen Stunden eine ausgesprochene Rötung der Plattenteile, die dem Licht und der Luft (dem O) ausgesetzt waren. Die durch den Objektträger gegen Luft geschützte Stelle blieb farblos. Die Rötung war bei Anwendung von verschieden wässerigen Lösungen der Konzentration entsprechend abgestuft. Das unbestrahlte Lezithin ergab unter dem Einfluß des Lichtes und derselben Zeit keine Reaktion, ebensowenig wie die Kontrollplatten ohne Lezithin.

Es tritt also unter dem Einfluß des Lichtes (durch Glas passierender Strahlen) und des Luftsauerstoffs in der Endoplatte eine deutliche positive Aldehydreaktion bei Bestrahlung des Lezithins auf. Damit war die Abspaltung hochwirksamer Aldehyde bewiesen.

Versuch 21. In der gleichen Weise stellte ich nun Versuche mit Acrolein an und zwar mit Lösungen von 1:1000 bis 1:100 Millionen.

Dabei wurde 1 ccm der nun natürlich nicht bestrahlten Lösung auf Fließpapier getröpfelt, dieses auf die Glasplatte gelegt und dann in gleicher Weise die Endo-Platte darüber befestigt.

Ergebnis. Es ließ sich zeigen, daß auch hier in genau gleicher Weise, d. h. unter dem Einfluß des Lichtes und Sauerstoffs eine Aldehydreaktion eintrat, bis zu einer Verdünnung von 1:100 Millionen. Die Rötung der Platten war entsprechend der Konzentration wieder genau abgestuft.

Diese Reaktion hat also eine Besonderheit, nämlich die, daß sie nur bei längerer Lichteinwirkung und Gegenwart von O eintritt, dann aber von einer Feinheit ist, die über die Grenzen der meisten anderen chemischen Reaktionen weit hinausgeht. Dieser Befund gibt einen Hinweis, daß chemisch sonst nicht nachweisbare Körper unter dem Einfluß des Lichtes doch noch Reaktionen zeigen können, und gestattet den Schluß, daß auch normalerweise bei der Einwirkung von Licht oder UVS. auf Tiere oder Pflanzen derartige Stoffe vorhanden sein müssen, die den Zweck haben, als hochaktive Verbindungen dem Sauerstoffwechsel der Zelle zu dienen. Denn es handelt sich um ein ungesättigtes Aldehyd mit Doppelbindung, das besonders aktiv ist. Diese Möglichkeit der Wirkung geringster Mengen läßt auch erklärlich erscheinen, daß trotz der starken UVL.-Absorption in der Haut die wenigen Strahlen, die noch das Kapillarblut erreichen (Sonne, Hasselbalch), normalerweise ausreichend wirken, wenn nicht durch eine weitere Schädigung (unzweckmäßige Ernährung) diese Wirkung illusorisch gemacht wird. Gerade hier dürfte die Erklärung für die eigenartigen Ernährungsverhältnisse bei der Rachitis liegen. Entsprechende Tierversuche habe ich mit dem Acrolein noch nicht angestellt, wohl aber habe ich dieselben Versuche, wie bisher beschrieben, für das IB.-Wachstum mit dem Acrolein wiederholt und weitgehende Parallelen gefunden.

Versuch 22. Es läßt sich nachweisen, daß die Endoplatte auch unter dem Einfluß des UVO. gerötet wird. Die HS. wirkt also ebenso wie Acrolein. Der Befund ist von Bedeutung für die Aufbewahrung von Nährböden; und erst seit diesem Ergebnis habe ich bei meinen sämtlichen Versuchen die Rücksicht genommen, die daraus hervorging. Die früher unerklärlichen Resultate, daß unbelichtetes Ferrocyankalium im Nährboden bereits ein Ammenwachstum nach Neisser ergab, finden hiermit ihre Erklärung. Denn man muß annehmen, daß unter dem Einfluß des Lichts auch aus dem gewöhnlichen Agar entsprechende hochwirksame Aldehyde, die O-übertragend wirken, gebildet werden, die nur durch diese Versuchsmethode nachweisbar sein dürften.

Versuch 23. Lezithin wird in den Deckel einer Petri-Schale gestrichen und dann bestrahlt. Der Nährboden darüber enthält unbestrahltes Ferrocyankalium (1 ccm einer 0,1proz. Lösung).

Ergebnis. Das Ammenwachstum ist auf den Platten, die dem bestrahlten Lezithinspaltungsprodukt ausgesetzt waren, kräftiger als auf den Kontrollplatten. Es zeigt sich also auch bei Uebertragung durch die Luft die Einwirkung auf die O-Aktivierung des Ferrocyankaliums.

Versuch 24. Einwirkung von Acrolein auf Blutlösungen. Es mußte geprüft werden, ob Acrolein auch in gleicher Weise schädigend auf die Blutfermente wirkt wie die HS. Zu diesem Zwecke wurden je 10 ccm einer $^1/_{10}$proz. Blutlösung in besonders gereinigten Reagenzgläsern mit je 1 ccm Acroleinlösung gemischt. Nach 30 Min. ergab sich das in der Tabelle 12 dargestellte Resultat.

Tabelle XII.

Verdünnungsgrad	Katalase		Benzidinprobe	
	Kontrolle ohne Zusatz	Einfluß des Acroleins	Kontrolle ohne Zusatz	Einfluß des Acroleins
Blutlösung ohne Zusatz	+	+	++++	++++
Blutlösung + Acrolein 1:1000	(+)	(+)	++++	+
dasselbe + 1:10000	(+)	(+)	++++	++
„ + 1:100000	(+)	(+)	++++	++
„ + 1:1 Million	(+)	(+)	++++	+++
„ + 1:10 Millionen	(+)	(+)	++++	++++

Wir sehen also einen deutlichen Einfluß, entsprechend der Verdünnung des Acroleins, auf die Peroxydase des Blutes, die völlig dem Einfluß der HS. entspricht. Die Katalase wird nicht entsprechend den Verdünnungen abgeschwächt.

Versuch 25. Versuche mit Ferrocyankalium und Acrolein. Nunmehr mußte geprüft werden, ob das Acrolein auch bei der Benzidinreaktion in gleicher Weise auf das Ferrocyankalium wirkt, wie bei den oben beschriebenen Versuchen mit der HS. Es wurden wieder $^1/_{10}$proz. Lösungen von Ferrocyankalium verwendet (10 ccm + 1 ccm der Acroleinverdünnung).

Tabelle XIII.

$^1/_{10}$proz. Ferrozyankaliumlösung + Acroleinverdünnung	5 Minuten	15 Minuten	30 Minuten	3 Stunden
0,2 ccm mit der Verdünnung 1:1000	+ klar	+++ klar	++++ klar	++ klar
Verdünnung 1:10000	(+) klar	++ klar	+++ klar	+ klar
„ 1:100000	— getrübt	+ klar	++ klar	(+) klar
„ 1:1 Million	— getrübt	(+) etwas getrübt	+ klar	— getrübt
„ 1:10 Millionen	— getrübt	— getrübt	+ klar	— getrübt
Ferrozyankalium allein	— getrübt	— getrübt	— getrübt	— getrübt

Bei allen diesen Versuchen verliefen die Farbreaktionen so schnell, daß Unterschiede nur bei gleichzeitigem Pipettieren mit der rechten und linken Hand klar herauskamen. Wir sehen auch wieder denselben Verlauf der Benzidinreaktion wie bei der Einwirkung der HS. allein. Bereits nach 5 Min. ist die Verfärbung des Reagens deutlich, sie schreitet nach 15 Min. bis zur Verdünnung von 1:1 Million, nach 30 Min. bis zu 1:10 Millionen vorwärts, nach 3 Std. aber ist nur noch in

den höheren Konzentrationen eine Reaktion vorhanden, die, wie ein Kontrollversuch ergab, durch die Acroleinlösung allein hervorgerufen würde. Interessant war, daß gleichlaufend mit dem Positivwerden der Reaktion die Gesamtlösung mit Eisessig klar wurde, und man kann darin einen Hinweis auf eine Veränderung kolloidaler Zustände erblicken. Die positive Reaktion kann anläßlich der Eigenreaktion des Acroleins nur bei der Verdünnung 1:100 000 und durch die Verstärkung gegenüber der Kontrolle bewertet werden. Das Eintreten der Reaktion allein in den stärkeren Lösungen reicht nach meiner Ansicht nicht aus. So aber wie die Dinge jetzt liegen, muß ich mit Sicherheit das Positivwerden der Reaktion als einen direkten Einfluß des Acroleins auf das Eisen erkennen.

In weiteren Versuchen habe ich dann beobachtet, ob der Farbenverlauf der Reaktion irgendeinen Rückschluß auf die stattfindenden Vorgänge erlaubt. Dabei zeigte sich, daß zunächst bei der Einwirkung der stärkeren Lösung die Reaktion auftrat, dann fortschritt bis zu den schwächsten Lösungen und in gleicher Weise wieder verschwand. Der Versuch ließ sich durch Farbenaufnahmen leider nicht festhalten. Ich habe dann noch Versuche angestellt über den Einfluß des Acroleins auf das Ammenwachstum der IB.

Versuch 26. Acrolein und Ammenwachstum. Die folgende **Tafel VI** gibt darüber Auskunft. Der verwendete Agar war schwach eisenhaltig; deshalb findet sich schon auf dem Bild 1 (Agar allein) ein Ammenwachstum. In Bild 2 zeigt sich eine Verstärkung des Ammenwachstums bei bloßem Zusatz von Ferrocyankalium, das aber weit zurückbleibt hinter Bild 3, wo gleichzeitig Acrolein 1:100 000 auf das Ferrocyankalium wirkt. Hier zeigt sich nicht nur das Neissersche Ammenwachstum, sondern auch eine ideale Form des Graßbergerschen Riesenwachstums: das bedeutet, unter Berücksichtigung unserer bisherigen Ergebnisse, daß eine optimale Bildung des X-Faktors eingetreten sein muß. Da bei mehreren Kontrollversuchen das gleiche Verhalten gefunden wurde, muß ich aus diesen Befunden schließen, daß das Acrolein in gleicher Weise wirkt, eher noch kräftiger als bestrahltes Lezithin. Bevor man aber die letzten Konsequenzen aus diesen Versuchen zieht, sind unbedingt Versuche mit synthetischen Nährböden notwendig, damit man von den Zufälligkeiten des Agars unabhängig wird.

Diese Beobachtungen über den Einfluß der Photoaktivität eines Spaltungsproduktes des Lezithins stehen nicht vereinzelt. Sie sind geeignet, viele Tatsachen, die schon lange bekannt sind, in ein anderes Licht zu setzen. Die von Schläpfer beobachtete Photoaktivität des Blutes, die ihn zu der Annahme veranlaßte, das Blut als einen „Lichtüberträger" anzusehen, gewinnt jetzt eine ganz andere Bedeutung. Wir sehen auch einen klaren Weg, auf dem das Licht durch sicher nachweisbare Spaltprodukte indirekt im Innern des Körpers wirken kann. Und die Annahme von Haxthausen, daß die die Hautzellen tötenden Strahlen die wirksamsten seien, weil dabei die Lipoidsubstanzen frei werden und die Spaltungsprodukte resorbiert werden können, gewinnt eine sichere Grundlage. Und diese Befunde müssen zu einer Nachprüfung unserer bisherigen Auffassungen vom Einfluß der UVS. auf den Körper führen, da man nicht mehr

die Meinung aufrecht erhalten kann, daß alle beobachteten Erscheinungen direkte Wirkungen der Strahlung seien, sondern mit Sicherheit jetzt chemisch charakterisierbaren Stoffen die Wirkung wird zuschreiben müssen. Es wird jetzt auch erklärlich, wie es kommt, daß die nicht in den Körper eintretenden UVS. derartig weitreichende Wirkungen auf den Organismus zu entfalten vermögen.

M. Versuch einer Zusammenfassung der Ergebnisse, um das Wesen der Wirkung des wachstumfördernden Vitamins zu erklären.

Jetzt lassen sich die gewonnenen Resultate zusammenfassen. Als übergeordnetes Prinzip über das Vitaminproblem sehen wir die UVS. Durch diese wird aus Lezithin oder Phosphatiden ein Aldehyd abgespalten. Dieses Aldehyd ist höchstwirksam dem O gegenüber und imstande, Mineralien (Eisen, Mangan) zu aktivieren. Dieses aktivierte Mineral ist der O-Uebertragung fähig. Es gelangt in die Zellen durch Verbindung mit wasserlöslichen Phosphatiden (Cranner), aus denen unter dem Einfluß des Lichtes wieder dieselben O-aktiven Aldehyde abgespalten werden können. In den Zellen hat das aktivierte Mineral die Aufgabe, seinerseits O auf das Plasma zu übertragen. Die Phosphatide kommen ubiquitär in Pflanzen und Bakterien vor. Anläßlich dieser Zusammenhänge können wir nicht mehr von einer Vitamin**substanz** reden, sondern wir müssen den ganzen Komplex zusammenfassen unter dem Begriff Vitamin**wirkung.** Das, was wir als wachstumsfördernde vitaminähnliche Substanz + Eisenfaktor bisher ansahen, gibt erst in dieser gemeinsamen Bindung die Vitaminwirkung. Für das Vitaminproblem insgesamt würde die Definition lauten: **Die Avitaminose ist die Folge einer gestörten Beziehung von Phosphatid und Mineral.**

Einige wenige Ansichten aus der Vitaminliteratur zeigen, daß bereits früher mehrere Autoren (z. B. Mc Collum) an ähnliche Zusammenhänge gedacht haben, und an dieser Stelle möchte ich an die bisher in der Vitaminliteratur kaum noch berücksichtigten Arbeiten von Röhmann erinnern, dessen Befunde über „unvollständige" Eiweißstoffe mir im Zusammenhang zu stehen scheinen mit ähnlichen Vorgängen, wie ich sie oben experimentell feststellen konnte.

Aber auch nicht nur für die Vitaminfrage bei Bakterien erscheinen diese Befunde wesentlich, sondern auch andere Wege sind durch diese Untersuchungen eröffnet. Es scheint möglich, daß ganz ähnliche Beziehungen bei der Rachitis vorliegen, nur daß hier der Kalk die Rolle des Minerals spielt. Auch die Pellagra-Forschung, bei der Hoffmann beschleunigte Oxydationsprozesse nachgewiesen hat und die Annahme machte, daß Lipoide eine Rolle spielen, dürfte unter diesem Gesichtspunkt behandelt werden können. Die Lokalisation der Krankheitserscheinungen hat ja schon längst auf die Rolle des Lichtes

bei der Pellagra hingewiesen. Auf die möglichen Beziehungen zur intravitalen Hämolyse beim Schwarzwasserfieber habe ich bereits oben aufmerksam gemacht. Insgesamt stehen wir aber mit diesen Ergebnissen nicht vor abgeschlossenen Tatsachen, sondern es will mir scheinen, als ob ganz andere Methoden als bisher zur Erklärung der Avitaminosen nach diesen Befunden angewendet werden müßten. Ob sich dabei finden wird, daß jedesmal, wie Cranner vermutet, art- oder organspezifische Phosphatide eine Rolle spielen, oder ob verschiedene Mineralien dabei von Bedeutung sind, wird wohl in erster Linie berücksichtigt werden müssen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1) In dieser Arbeit ist der Versuch gemacht, die neueren Ergebnisse der Vitaminforschung auf die bakterienwachstumsfördernden Stoffe anzuwenden. Vor allem wurde der Einfluß des UVL. auf diese Stoffe studiert.

2) Als bisher sichergestellt konnte folgendes gelten: Der IB. braucht zu seinem Wachstum neben den üblichen Nährbodenbestandteilen zwei Faktoren, den V-Faktor, der vitaminähnlich ist, und den X-Faktor, der eisenhaltig ist. Beide Substanzen kommen gemeinsam in Blut und Pflanzen vor. Wenn der V-Faktor fehlt, kann er durch die Tätigkeit bestimmter Bakterien ersetzt werden, die in ihrem Umkreis ein Riesenwachstum der IB.-Kolonien herbeiführen (Graßbergersche Form des Ammenwachstums). Fehlt der X-Faktor, oder ist er irgendwie ungeeignet geworden oder noch nicht vollwirksam, dann kann er durch bestimmte Bakterien vollwirksam werden. Die IB. wachsen aber dann nur innerhalb oder unmittelbar am Rande der Ammenkolonie (Neissersche Form). Die V-Substanz kann auch allein durch Extraktion von Pflanzenteilen mit destilliertem Wasser gewonnen werden.

3) Bestrahlt man eine verdünnte Blutlösung, die nur noch den Eisenfaktor enthält, dann kann bei Zusatz von Erythrosin dieser Faktor unwirksam werden. Dies kennzeichnet sich dadurch, daß nicht mehr die Graßbergersche Form, sondern die Neissersche Form des Ammenwachstums auftritt. Durch bestimmte Bakterien kann also ein unwirksamer X-Faktor vollwirksam werden.

4) Bei Zusatz von unbestrahltem Ferrocyankalium zu Agar tritt weder die Neissersche noch die Graßbergersche Form des Ammenwachstums auf. Bestrahlt man aber dieses Eisensalz, dann tritt, zunehmend mit der Dauer der Bestrahlung, die Neissersche Form des Ammenwachstums auf. Es wird also durch Bestrahlung und dann einsetzende Bakterientätigkeit der X-Faktor gebildet.

5) Das bestrahlte Eisensalz ist niemals für sich allein imstande, Wachstum der IB. auf festem Nährboden zu ergeben. Eine Bildung

eines anorganischen Vitamins, wie sie von Baudisch und Welo behauptet wird, findet also nicht statt. Immer ist die Tätigkeit der lebenden Pflanzenzelle erforderlich.

6) Die gleichen Befunde lassen sich durch Bestrahlung von Manganchlorür erreichen. Mangan vermag danach das Eisen in gewissem Grade für den IB. zu ersetzen.

7) Gleichzeitig mit dieser Wirksamkeit auf den IB lassen sich folgende chemische Reaktionen des bestrahlten Eisensalzes finden: Es gewinnt durch die Bestrahlung die Fähigkeit, dem Benzidin gegenüber eine Farbreaktion zu geben, die ähnlich der Peroxydasereaktion des Blutes ist (Neuberg). Die Katalasereaktion wird vermehrt oder tritt neu auf. Bei Zusatz von H_2O_2 sind sämtliche Reaktionen, mit Ausnahme der Wachstumsbeeinflussung, erheblich vermehrt. Bei Zusatz von HCl zu dem bestrahlten Ferrocyankalium tritt eine Blaufärbung ein, die durch weiteren Zusatz von Rhodanammon verstärkt wird. Ferri-Verbindungen allein können bei dieser Reaktion nicht in Frage kommen, sondern es muß eine labile Ferro-Ferri-Verbindung entstehen. Im Dunkeln kann eine Umkehrung der Reaktionen eintreten: farblose Verbindungen können wieder gelbgrün werden.

Es wird daraus geschlossen, daß es sich bei allen Vorgängen um eine Steigerung der Sauerstoffaktivität des Eisensalzes unter dem Einfluß des Lichtes handelt.

8) Da das bestrahlte Ferrocyankalium allein nicht zum Wachstum der IB. führte, mußte der V-Faktor noch besonders erforscht werden. Durch die neueren Ergebnisse der Vitaminforschung (Hess und Steenbock) sind wir auf Zusammenhänge der Vitamine mit dem UVL. und dessen Einfluß auf Cholesterin hingewiesen. Durch die Arbeiten von Hansteen Cranner ist bewiesen, daß durch wässerige Extraktion von Pflanzen Phosphatide austreten. Meinerseits habe ich früher beweisen können, daß derartige wässerige Extrakte den V-Faktor enthalten. Somit waren die Grundlagen gegeben, die Rolle der Phosphatide und Lipoide in Beziehung zu bringen zu dem UVL. Als Versuchsmaterial wurde Lezithin gewählt.

9) Bei Zusatz von Lezithin zu einem nur den Blut-X-Faktor enthaltenden Nährboden wurde das Riesenwachstum (Graßberger) deutlich verstärkt.

10) Bei Zusatz von bestrahltem Ferrocyankalium und unbestrahltem Lezithin wurde das Neissersche Ammenwachstum verstärkt. Das gleiche Resultat ließ sich erreichen durch Zusatz von bestrahltem Lezithin und unbestrahltem Ferrocyankalium. Das bestrahlte Lezithin wirkte also ebenso wie die UVS. auf Ferrocyankalium.

11) Als Ursache für diese Erscheinung wurde zunächst eine vom Lezithin ausgehende Strahlung vermutet, zumal die photographische Platte durch das bestrahlte Lezithin kräftig geschwärzt wurde. Bei geeigneter Versuchsanordnung aber zeigte sich, daß die Wirkung nur durch gasförmige Stoffe eintreten konnte, und auch bei Versuchen mit der lichtelektrischen Zelle war niemals eine Strahlung festzustellen. Dagegen fand sich, daß bestrahltes Lezithin den Endo-Agar deutlich rötete, aber nur, wenn man die Reaktion bei Tageslicht und O-Zutritt verlaufen ließ. Es zeigte sich also eine deutliche Aldehydreaktion. Da auch eingeengte Pflanzenextrakte, die nachweisbar V-Substanz enthielten, dieselben Reaktionen gaben, muß auf gleiche wirksame Bestandteile geschlossen werden.

12) Aus theoretischen Gründen heraus schien es möglich, daß als wirksames abgespaltenes Aldehyd aus den Phosphatiden bzw. dem Lezithin Acrolein in Frage kommen könne. Es zeigten sich in Versuchen mit diesem in der Tat die gleichen Reaktionen: sowohl auf Blut, wie auf Ferrocyankalium und das Ammenwachstum der IB. Der Endo-Platte gegenüber ließ es sich nachweisen bis zu einer Verdünnung von 1:100 Millionen. Das Gleiche gelang gegenüber der photographischen Platte.

13) Alle diese Erscheinungen ließen sich aber nur im Ammenversuch nachweisen. Ohne die Tätigkeit der lebenden Pflanzenzelle war weder das bestrahlte Ferrocyankalium noch bestrahltes Lezithin noch das Acrolein wirksam. Es bedurfte also immer eines Pflanzenproduktes, oder eines Bakterienproduktes, durch das der X-Faktor erst wirken konnte. Als wirksame Substanzen werden die wasserlöslichen Phosphatide von Cranner angesehen, die die Aufgaben haben sollen, dank ihrer hohen Oberflächenspannung und ihrer besonderen chemischen Affinitäten, die Stoffe in die Zellen zu transportieren. Da sie nun aber gleichzeitig unter dem Einfluß des Lichtes hochwirksame Aldehyde abspalten können, haben sie also wohl auch die Aufgabe, zuerst das Mineral durch ihre Spaltprodukte gegenüber dem Sauerstoff zu aktivieren, und dann dies aktivierte Mineral in die Zellen zu bringen. **Die gemeinsame Wirkung von Phosphatid und Mineral ergibt danach das, was wir als „Vitaminwirkung" gegenüber den Bakterien anzusehen gewohnt sind.**

14) Allen diesen Erscheinungen übergeordnet ist die Lichtwirkung, die besonders durch das UVL. vertreten wird.

Zum Schlusse dieser Arbeit ist es mir ein Bedürfnis und eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten, früheren Lehrer, Herrn Geheimrat Pfeiffer, meinen ergebensten Dank auszusprechen. Seiner steten Förderung und seinem Interesse verdanke ich die Mittel, ohne die mir eine Durchführung der Versuche, die $2^1/_2$ Jahre gewährt haben,

nicht möglich gewesen wäre. In nicht geringerem Maße bin ich seinem Nachfolger, Herrn Professor Dr. Prausnitz, zu Dank verpflichtet, da ich unter seiner Leitung den letzten Teil der Arbeit beenden konnte.

Mein Dank gebürt ferner Herrn Geheimrat Hürthle vom Physiologischen Institut, Herrn Geheimrat Pohl vom Pharmakologischen Institut, Herrn Professor Dr. Schmitz vom Physiologisch-chemischen Institut, sowie Herrn Professor Dr. Eucken vom Physikalisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule und den Herren Dr. Hesse und Dr. Suhrmann, an die ich mich häufig in Spezialfragen habe wenden müssen, und die mir in liebenswürdigster Weise stets behilflich gewesen sind.

Verzeichnis der benutzten Literatur.

Abderhalden, Klimatolog. Tagung. Davos 1925. — Alpern, Strahlentherapie. Bd. 15. 1923. S. 661. — Amsler u. Pick, Arch. f. exper. Pathol. Bd. 82. S. 86. — Arzt u. Hausmann, Strahlenther. Bd. 11. 1920. — Asada, Daselbst. Bd. 14. 1922. S. 723. — Asbelew, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 47. 1926. S. 89. — Asher, Klimatol. Tagung. Davos 1925. S. 270. — Bach, Strahlenther. Bd. 8. 1918. S. 611. — Bang, Klimatol. Tagung. Davos 1925. — Basch, D. med. Wochenschr. Bd. 39. 1913. S. 1456. — Baudisch u. Welo, Die Naturwissenschaften. 1925. S. 749. — Benrath, Strahlenther. Bd. 7. 1916. S. 88. — Bering, Med.-Naturw. Arch. 1907. — Ders., Strahlentherapie. Bd. 3. 1913. S. 636. — Ders. und Meyer, Daselbst. Bd. 1. 1912. S. 189. — Berner, Daselbst. Bd. 5. 1914. S. 342. — Bernhard, Daselbst. Bd. 8. 1918. S. 500. — Ders., Daselbst. Bd. 9. 1919. S. 520 — Ders., Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 427. — Beumer, Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 1585. — Ders., D. med. Wochenschr. 1925. S. 1997. — Bickel, Med. Klin. Bd. 21. 1925. — Bordier, Arch. d'Electr. méd. 1908. — Ders., Morell et Nogier, Daselbst 1906. — Dies., Daselbst 1909. — Borinski, Ges.-ingenieur. Bd. 35. 1912. S. 779. — Borissow, Wratsch. 1900. (Ref. Zeitschr. f. phys. u. diät. Ther. Bd. 5. S. 337.) — Brandess, Fortschr. d. Röntgenstr. Bd. 32. 1924. S. 352. — Braun und Cahn-Bronner, Biochem. Zeitschr. Bd. 131. 1922. S. 192. — Dies., Biochem. Zeitschr. Bd. 131. H. 3/4. — Dies., Klin. Wochenschr. Bd. 1. 1922. S. 1824. — Braun u. Kondo, Klin. Wochenschr. Bd. 1. 1922. S. 10. — Brinkmann u. Szent-György, Bioch. Zeitschr. Bd. 139. 1923. S. 261 u. 270. — Burchardi, Strahlenther. Bd. 12. 1921. S. 808. — Busk, Bioch. Zeitschr. 1906. S. 425. — Busse, Ultraviolette Strahlen und ihre Eigenart. Sollux-Verlag. Hanau. — Büttner, Arch. f. Hyg. Bd. 97. H. 1/2. — Cahn-Bronner, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. 1921. S. 375. — de la Camp, Strahlenther. Bd. 13. 1922. S. 549. — Carl, Daselbst. Bd. 5. 1914. S. 804. — Chalupecki, Daselbst. Bd. 8. 1918. S. 141. — Christen, Daselbst. Bd. 9. 1919. S. 590. — Ders., Deutsche med. Wochenschr. 1917. S. 1558. — Mc Collum, Americ. Journ. of Physiol. Vol. 25. 1909/10. p. 120. — Mc Collum and Pitz, Journ. Biol. Chem. Vol. 33. 1918. p. 471. — Dies., Journ. Biol. Chem. Vol. 36. 1918. p. 439. — Cranner, Hansteen, Meldinger fra Norges Landbrukshøiskole. Bd. 2. 1922. H. 1/2. — Czapek, Ueber eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena, Fischer. 1911. — Damon, Amer. Journ. of Hyg. 1924. p. 408. — Ders., Journ. Biol. Chem. Vol. 48. 1921. p. 379. — Davidsohn, Bioch. Zeitschr. Bd. 150. S. 304. — Davis, Journ. Inf. Dis. Vol. 29. 1917. p. 171. — Degkwitz, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 1993. — Dorno, Die Naturw. Jahrg. 12. 1924. S. 1068. — Ders., Strahlenther. Bd. 8. 1918. S. 607. — Ders., Daselbst. Bd. 9. 1919. S. 465. — Ders., Daselbst. Bd. 14. 1922. S. 25. — Ders., Daselbst. Bd. 18. 1924. S. 177. — Doerr u. Moldovan, Wien. klin. Wochenschr. 1911. S. 555. — Drummond, Lancet. 1926. p. 272. — Edlefsen, Münch. med. Wochenschr. 1904. — Eidinow, Ref. Centralbl. f. Bakt. 1926. S. 264. — Essinger, Bioch. Zeitschr. Bd. 149. 1924. S. 344. — Ewald, Strahlenther. Bd. 18. 1924. S. 1. — Fischer, H., Münch. med. Wochenschr. 1923. S. 1143. — Ders., Strahlenther. Bd. 18. 1924. S. 185. — Freund, Daselbst. Bd. 10. 1920. S. 1145. — Ders., Wien. klin. Wochenschr. 1912. Nr. 5. — Fränkel u. Führer, Wien. klin.

Wochenschr. Bd. 16. 1916. S. 46. — Funk, Progr. méd. T. 53. 1925. p. 902. — Funk and Dubin, Journ. Biol. Chem. Vol. 48. 1921. p. 437. — Galeotti, Ann. de l'Inst. Past. T. 30. 1916. p. 49. — Gardenghi, Boll. della Società Med. di Parma. 1908. p. 15. — Gassul, Strahlenther. Bd. 10. 1920. S. 1162. — Ders., Daselbst. Bd. 9. 1919. S. 232. — Ders., Klin. Wochenschr. 1923. S. 2038. — Glitscher, Strahlenther. Bd. 9. 1919. S. 255. — Gottschalk u. Nonnenbruch, Daselbst. Bd. 15. 1923. — Grafe, Bioch. Zeitschr. Bd. 159. 1925. S. 444. — Grafe u. Horvat, Daselbst. Bd. 159. 1925. S. 449. — Grafe u. Magistris, Daselbst. Bd. 162. 1925. S. 366. — Grober u. Sempell, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 129. 1919. S. 305. — v. Gröer u. v. Jasinski, Klin. Wochenschr. 1922. S. 683. — Gudzent, Strahlenther. Bd. 2. 1913. S. 467. — Gumpert, Med. Klin. Bd. 1. 1905. S. 1037. — György, Klin. Woch. 1923. S. 1302. — Ders., Daselbst. 1925. S. 1118. — Ders., Deutsche med. Wochenschr. 1925. S. 1991. — Haag, Arch. f. Hyg. Bd. 97. H. 1/2. — Hackradt, Strahlenther. Bd. 10. 1920. S. 1137. — Ders., Daselbst. Bd. 11. 1920. S. 1049. — Ders., Daselbst. Bd. 11. 1920. S. 803. — Ders., Daselbst. Bd. 12. 1921. S. 843. — Ders., Daselbst. Bd. 12. 1921. S. 1005. — Ders., Daselbst. Bd. 12. 1921. S. 1015. — Ders., Daselbst. Bd. 14. 1922. S. 77. — v. Hahn, Pflüg. Arch. Bd. 208. 1925. S. 732. — Ders., Daselbst. Bd. 208. 1925. S. 745. — Hansen, Th., Klin. Wochenschr. 1922. S. 1469. — Ders., Strahlenther. Bd. 16. 1924. S. 114. — Harris and Creighton, Journ. Biol. Chem. Vol. 21. 1915. p. 303. — Hart, Mc Collum and Fuller, Amer. Journ. of Physiol. Vol. 23. 1908. p. 246. — Hart, Steenbock and Elvejhem, Journ. Biol. Chem. Vol. 62. 1924. p. 117. — Haxthausen, Strahlenther. Bd. 18. 1924. S. 674. — Haslebacher, Korr. f. Schweiz. Aerzte. Bd. 47. 1919. S. 243. — Hasselbalch, Arch. d'Électr. méd. 1910. — Ders., Strahlenther. Bd. 2. 1913. S. 403. — Hausmann, Strahlenther. Bd. 3. 1913. S. 112. — Ders., Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 1289. — Ders., Zeitschr. f. Biochem. Bd. 67. 1915. S. 309. — Ders., Strahlenther. Bd. 9. 1919. S. 46, 71. — Ders., Grundzüge der Lichtbiologie und Lichtpathologie. Strahlenther. 8. Sonderband. 1923. — Hausser u. Vahle, Strahlenther. Bd. 13. 1922. S. 41. — Hayek, Wien. klin. Wochenschr. 1920. — Hertel, Zeitschr. f. allg. Physiol. 1904. S. 1. — Ders., Daselbst. 1905. S. 95 u. 535. — Ders., Daselbst. 1906. S. 44. — Hess u. Gutmann, Klin. Wochenschr. 1921. S. 539. — Hess u. Weinstock, Journ. Biol. Chem. Vol. 64. 1925. — Dies., Lancet. 1926. p. 12. — Heussner, Strahlenther. Bd. 6. 1915. S. 70. — Ders., Daselbst. Bd. 7. 1916. S. 628. — Ders. u. Bach, Lichttherapie und Lungentuberkulose. Sollux-Verlag. Hanau 1925. — Hill, Strahlenther. Bd. 20. 1925. S. 843. — Hobert, Klin. Wochenschr. 1923. S. 1213. — Hoffmann, Ergebn. d. Physiol. Bd. 7. 1916. 2. — Hofmeister, Daselbst. Bd. 9. 1910. S. 429. — Hollmann, Beitr. z. Klin. d. Tub. Bd. 21. 1911. S. 126. — Hörnicke, Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 1726. — Ders., Strahlenther. Bd. 20. 1925. S. 664. — Huldschinski, Strahlenther. Bd. 11. 1920. S. 435. — Ishido, Klin. Wochenschr. 1923. S. 353. — Jesionek, Strahlenther. Bd. 7. 1916. S. 771. — Ders., Daselbst. Bd. 11. 1920. S. 321. — Ders., Zeitschr. f. Tub. Bd. 24. 1916. S. 401. — Jodlbauer, Strahlenther. Bd. 2. 1913. S. 71. — Ders., u. Tappeiner, Daselbst. Bd. 2. 1913. S. 84. — Jüngling, Daselbst. Bd. 7. 1916. S. 413. — Kämmerer, Wien. klin. Wochenschr. 1914. S. 1009. — Keller, Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 346. — Ders., Strahlenther. Bd. 16. 1924. S. 52. — Kestner, Die Naturw. 1924. S. 1075. — Ders., Peemöller u. Plaut, Klin. Wochenschr. 1913. S. 2018. — Kisch, Strahlenther. Bd. 10. 1920. S. 352. — Knorr, Weichardts Ergebn. Bd. 6. S. 350. — Ders., Daselbst. Bd. 7. 1925. — Ders. u. Gehlen, Arch. f. Hyg. Bd. 94. 1924. — Koch, W., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 63. 1909. S. 432. — Kock, Strahlenther. Bd. 13. 1922. S. 134. — Koenigsfeld, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 91. S. 159. — Kollath, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. S. 506. — Ders., Daselbst. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 158. — Ders., Daselbst. 1925. S. 279. — Ders. u. Leichtentritt, Daselbst. Bd. 97. 1925. S. 65 u. 119. — Ders., Klin. Wochenschr. 1926. Nr. 21. — Ders., Arch. f. Kindheilk. Bd. 78. 1926. S. 195. — Kondo, Bioch. Zeitschr. Bd. 153. 1924. S. 302. — Kopaczewski, Théorie et pratique des colloids en Biologie et en Médicine. Paris 1923. — Krause, Strahlenther. Bd. 19. 1925. S. 882. — Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1924. S. 1702. — Kreibel, Arch. f. Derm. und Syph. Bd. 113. 1912. — Kritschewski u. Muratowa, Zeitschr. f. Immunitätswiss. Bd. 38. 1923. — Kroetz, Biochem. Zeitschr. Bd. 153. 1924. S. 165. — Ders., Daselbst. Bd. 151. 1924. S. 146. — Kruse, Allg. Mikrobiol. 1910. Leipzig, Vogel. — Küster, Hoppe-Sevler. 1920.

Bd. 109. S. 117 u. 125. — Leicher, Strahlenther. Bd. 19. 1925. S. 392. — Leidner, Zeitschr. f. Balneol. usw. Bd. 7. 1914/15. — Levy, Strahlenther. Bd. 7. 1916. S. 602. — Ders., Daselbst. Bd. 9. 1919. S. 418. — Ders., Daselbst. Bd. 11. 1920. S. 816. — Ders., Daselbst. Bd. 17. 1923. S. 602. — Ders., Daselbst. Bd. 18. 1924. S. 618. — v. Liebermann u. Wiesner, Bioch. Zeitschr. Bd. 35. 1911. S. 363. — Lindemann, Strahlenther. Bd. 9. 1919. S. 315. — Lode, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 23. 1910. S. 1160. — Loewy, Klin. Wochenschr. 1924. S. 1009. — Ders. u. Dorno, Strahlenther. Bd. 20. 1925. S. 411. — Martenstein, Daselbst. Bd. 18. 1924. 3. — Mayer, Rud., Arch. f. Kindheilk. Bd. 70. — Meyer, Edg., Klimatol. Tag. Davos. 1925. — Müller, Arch. f. Kindheilk. Bd. 77. 1925. S. 122. — Naswitis, Med. Klin. 1922. S. 1410. — Neisser, A., Dtsch. med. Wochenschr. 1904. — Neuberg, Bioch. Zeitschr. Bd. 13. — Ders., Daselbst. Bd. 27. — Ders., Daselbst. Bd. 29. — Ders., Strahlenther. Bd. 7. 1916. S. 737. — Ders. u. Karczag, Radium in Biolog. u. Heilk. Bd. 2. H. 4. — Neuberg u. Gaiambos, Strahlenther. Bd. 7. 1916. S. 734. — Neuberg u. Peterson, Daselbst. Bd. 7. 1916. S. 737. — Nogier, Ach. d'Élektr. méd. expér. et clin. 1910. — Oker-Blom, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 74. 1913. S. 242. — Passow u. Rimpau, Münch. med. Wochenschr. 1924. S. 733. — Peemöller, Strahlenther. Bd. 20. 1925. S. 856. — Pfeiffer, H., Wien. klin. Wochenschr. 1911. S. 1. — Pfeiffer, H. u. Bayer, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 1921. S. 137. — Pfeiffer, Rich., Dtsch. med. Wochenschr. 1892. — Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1892. — Pinkussen, Klin. Wochenschr. 1922. S. 174. — Ders., Bioch. Zeitschr. Bd. 134. 1923. S. 459. — Ders., Daselbst. Bd. 144. 1924. S. 372. — Ders., Daselbst. S. 366. — Ders., Daselbst. Bd. 150 1924. S. 36. — Ders., Strahlenther. Bd. 18. 1924. S. 625. — Ders. u. Kato, Bioch. Zeitschr. Bd. 134. 1923. S. 470. — Pinkussohn, Strahlenther. Bd. 3. 1913. — Pohl u. Pringsheim, Die lichtelektrischen Erscheinungen. Vieweg. 1914. — Poulsson, Dtsch. med. Wochenschr. 1926. S. 6. — Quincke, H., Pflüg. Arch. Bd. 57. 1894. S. 123. — Ders., G. Poggendorfs Ann. Bd. 11. 1903. — Radziszewski, Liebigs Ann. der Chem. Bd. 203. 1880. S. 305. — Reinhard, Münch. med. Wochenschr. 1917. S. 1193. — Reyn u. Ernst, Strahlenther. Bd. 10. 1920. S. 314. — Richet, Ch. jun., Journ. de Phys. T. 20. 1922. p. 49. — Riedel, Strahlenther. Bd. 13. 1922. S. 477. — Ders., Daselbst. Bd. 12. 1921. S. 361. — v. Rhoden, Zeitschr. f. exper. Path. Bd. 21. 1920. — Röhmann, Ueber künstl. Ernährung und Vitamine. Berlin, Bornträger. 1916. — Ders., Bioch. Zeitschr. Bd. 39. 1912. — Ders. u. Shamine, Daselbst. Bd. 42. 1912. S. 235. — Dies., Daselbst. Bd. 42. 1912. S. 250. — Rost, Dtsch. med. Wochenschr. 1915. Nr. 39. — Ders., Strahlenther. Bd. 6. 1915. S. 269. — Ders., Daselbst. Bd. 10. 1920. S. 1129. — Ders., Daselbst. Bd. 16. 1923/24. — Rothmann, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 36. S. 398. — Ders. u. Callenberg, Klin. Wochenschr. 1923. S. 1751. — Röttgers, Lehrb. d. Nahrungsmittelchemie. Leipzig. Barth. 1926. — Ruoff, Vet.-med. Inaug.-Diss. Stuttgart. 1912. — Rusznyák, Wien. klin. Wochenschr. 1920. S. 6. — Sacharoff u. H. Sachs, Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 7. — Salkowski, Biochem. Zeitschr. Bd. 19. 1909. S. 83. — Schäcker, Strahlenther. Bd. 12. 1921. S. 456. — Schall u. Alius, Strahlenther. Bd. 19. 1925. S. 559. — Schanz, Münch. med. Wochenschr. 1915. S. 643. — Ders., Daselbst. 1915. S. 1315. — Schanz u. Stockhausen, Arch. f. Ophthalm. Bd. 19. 1908. S. 452. — Schaumann, Dtsch. med. Wochenschr. 1909. S. 783. — Schläpfer, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 108. 1905. S. 537. — Schmidt, Hans, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 74. — Schmidt, F. W., Münch. med. Wochenschr. 1926. S. 154. — Schreiber u. German, Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 39. — v. Schrötter, Arch. f. Anat. u. Physiol. Bd. 183. 1906. S. 343. — Ders., Das österreich. Sanitätswesen. Bd. 23. 1911. Beilage zu Nr. 37. S. 312. — Ders., Strahlenther. Bd. 11. 1920. S. 605. — Ders., Daselbst. Bd. 16. 1924. S. 96. — v. Schubert, Dtsch. med. Wochenschr. 1926. S. 903. — Schüler, Dtsch. med. Wochenschr. 1906. — Schultze u. Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 43. H. 3/4. — Schulz, Berl. klin. Wochenschr. 1905. S. 979. — Ders., Derm. Zeitschr. 1907. — Senn, G., Klimatol. Tagung. Davos. 1925. — Shibuya, Strahlenther. Bd. 17. 1924. S. 412. — Ders., Daselbst. Bd. 18. 1924. S. 710. — Sonne, Strahlenther. Bd. 20. 1925. S. 829. — Ders., Daselbst. Bd. 16. 1924. S. 104. — Ders., Acta medica Skandin. Bd. 54. Fasc. 4. 1921 S. 336—394. — Ders., Klimatol. Tagung. Davos. 1925. — Spinka, Bioch. Zeitschr. 1924. S. 153, 197 u. 218. — Starlinger, Wien. klin. Wochenschr. 1922. S. 860. — Steenbock u. Daniels, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 84.

1925. p. 1093. — Stepp, Med. Klin. 1925. S. 1789. — Ders., Zeitschr. f. Biol. Bd. 22. 1909. S. 452. — Ders., Daselbst. Bd. 57. 1911. — Ders., Daselbst. Bd. 59. 1913. S. 366. — Ders., Ergebn. d. Physiol. Bd. 24. 1925. S. 67. — Ders., Klimatol. Tagung. Davos. 1925. — Stern u. Hesse, Derm. Zeitschr. 1907. — Stoklasa, Strahlenther. Bd. 6. 1915. — Straub, W., Münch. med. Wochenschr. 1904. S. 1093. — Strauss, Strahlenther. Bd. 14. 1922. S. 81. — Stümpke, Die med. Quarzlampe und Höhensonne. Berlin, Meusser. 1919. — Suski, Bioch. Zeitschr. 1923. S. 137. — Szenes, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 33. 1923. S. 398. — Takahashi, Strahlenther. Bd. 19. 1925. S. 124. — Tappeiner, Abderhaldens Handb. d. bioch. Arbeitsmethoden. Bd. 3. S. 1170. — Ders., Münch. med. Wochenschr. 1900. S. 5 u. 1729. — Ders., Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1908. — Ders. u. Jodlbauer, Münch. med. Wochenschr. 1904. S. 737. — Tarchanoff C. r. Acad. sciences. T. 133. 1900. — Thedering, Strahlentherapie. Bd. 6. 1915. S. 64. — Ders., Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 494. — Thiele u. Wolf, Arch. f. Hyg. Bd. 57. 1908. S. 29. — Dies., Daselbst. Bd. 60. 1907. S. 29. — Thjötta, Journ. exper. Med. Med. Vol. 33. 1921. p. 763. — Thjötta and Avery, Daselbst. 1921. p. 97. — Dies., Daselbst. 1921. p. 455. — Tizzoni und Filetti, Atti de la R. Accad. dei Line. lib. (3) 4. p. 168. Zit. nach Riedel. — Töpler, Jahresber. f. Agrik. Chem. 1861/62. S. 57. — Tryfus, Diss. Ort?, zit. nach Ziegler, Strahlenther. Bd. 14. 1923. S. 18. — Ders., Klin. Wochenschr. 1923. S. 694. — Tsukamoto, Strahlenther. 1924. — Vollmer, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 1994. — Ders., Daselbst. 1923. S. 1878. — Ders., 1924. S. 901. — Webster and Baudisch, Journ. of exper. Med. 1925. p. 473. — Wegner Virch. Arch. Bd. 55. 1872. S. 11. — Weichardt, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 104. 1925. S. 145. — Wellmann, Pflüg. Arch. Bd. 121. 1908. S. 508. — Wichmann, Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 28. — Wiener, Klin. Wochenschr. 1924. S. 936. — Wollmann, Compt. rend. des séances Soc. biolog. T. 85. — Ders. u. Vagliano, Daselbst. T. 86. 1922. p. 832. — Yoshiue Strahlenther. Bd. 18. 1924. S. 201. — Ziegler, Strahlenther. Bd. 14. 1922. S. 15. — Zilva, Biochem. Journ. Bd. 13. 1919. S. 164. — Ders., Daselbst. Bd. 14. 1920. S. 740. — Zoellner, Strahlenther. Bd. 9. 1919. S. 607.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

Fig. 1. Die dunkle Kolonie ist die Ammenkolonie; auf dem optimalen Levinthal-Agar findet keine Beeinflussung der IB.-Kolonien statt.

Fig. 2. Typisches Bild des Graßbergerschen „Riesenwachstums", ausgehend von der dunklen Ammenkolonie.

Fig. 3. Riesenwachstum und Kummerkolonien als Zeichen des „Kannibalismus" auf einer Platte. Der freie Zwischenraum zeigt, daß zwei verschiedene Beeinflussungen der IB.-Kolonien vorliegen müssen.

Tafel II.

Ammenwachstum der IB. bei Zusatz von Ferrocyankalium zum Nährboden. In Fig. 1 ist das Ferrocyankalium unbestrahlt, in Fig. 2 5 Min., in Fig. 3 15 Min., in Fig. 4 30 Min. bestrahlt. Die helleren Vorwölbungen am Rande der Ammenkolonie sind die IB.-Kolonien.

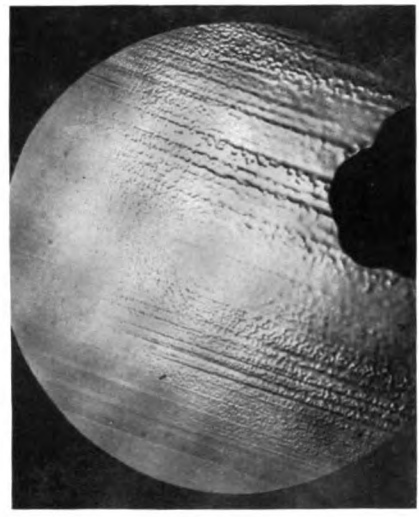
Tafel III.

Ammenwachstum der IB. bei Zusatz von bestrahltem Ferrocyankalium und unbestrahltem Lezithin zum Nährboden. Die Bestrahlungszeiten sind dieselben wie für die Tafel II.

Tafel IV.

Ammenwachstum der IB. bei Zusatz von unbestrahltem Ferrocyankalium und bestrahltem Lezithin zum Nährboden. Die Bestrahlungszeiten sind dieselben wie in Tafel II.

1

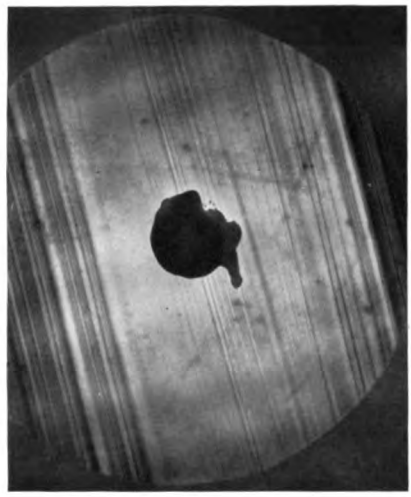


2

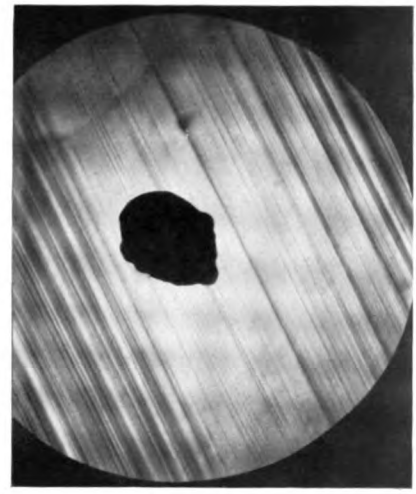
3

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

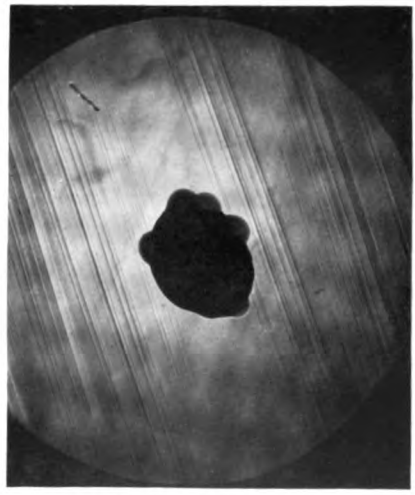
THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



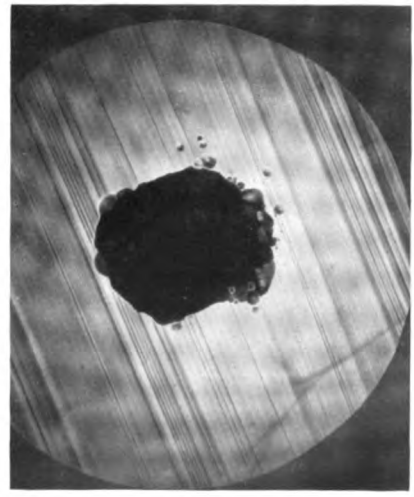
4



5



6

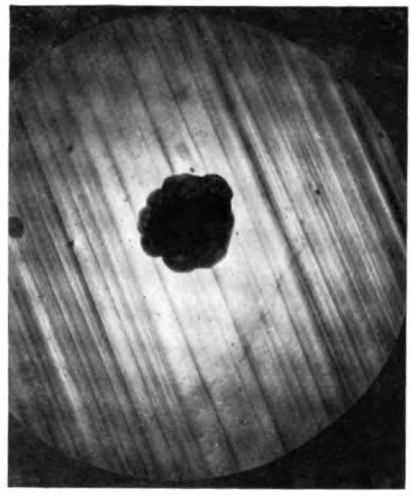


7

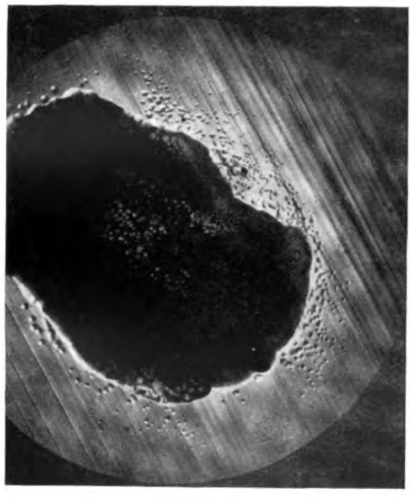
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

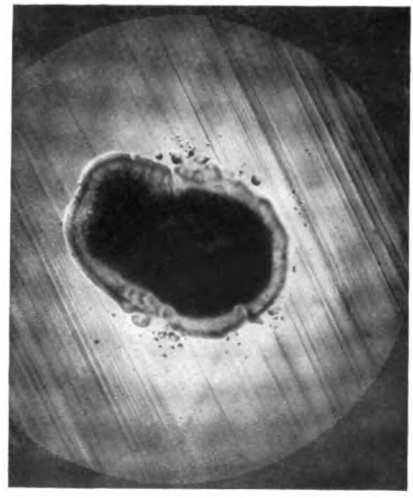
8



9



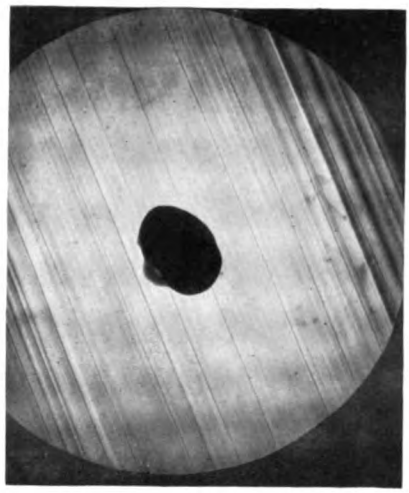
10



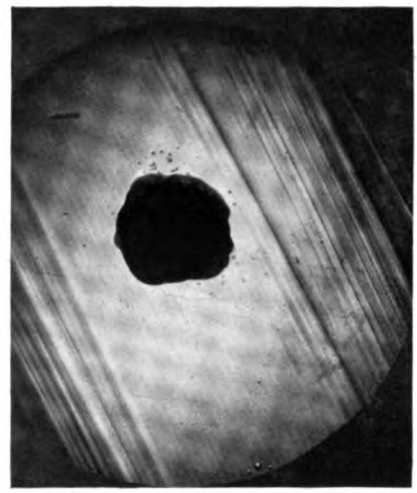
11

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

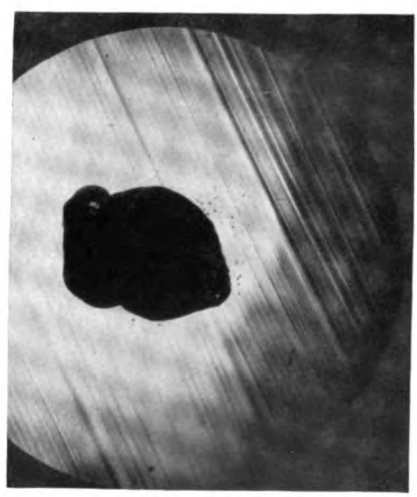
THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS



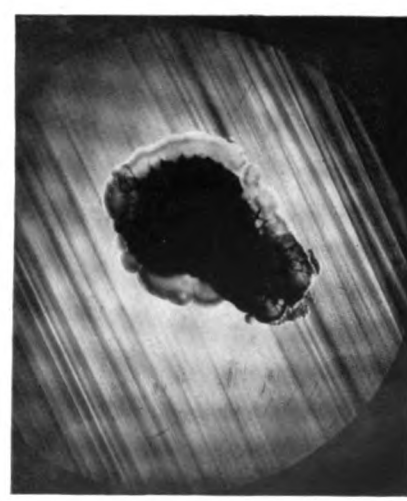
12



13



14



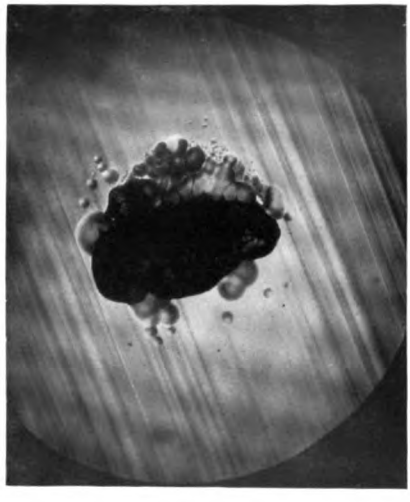
15

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

16

17



18

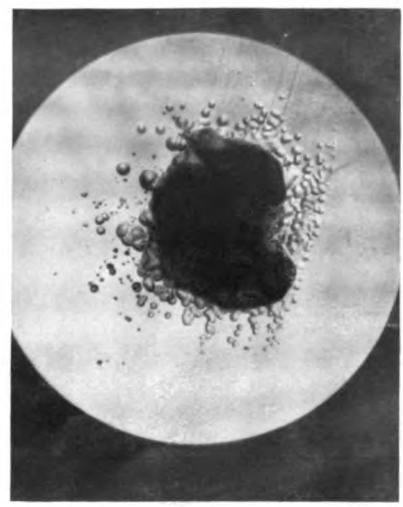
19

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

20

21



22

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Tafel V.

Ammenwachstum der IB. bei Zusatz von einer gemeinsam bestrahlten Lösung von Ferrocyankalium und Lezithin. Die Bestrahlungszeiten sind dieselben wie in Tafel II.

Tafel VI.

Fig. 1. Ammenwachstum der IB auf dem verwendeten Agar, der etwas eisenhaltig ist.

Fig. 2. Ammenwachstum der IB bei Zusatz von unbestrahltem Ferrocyankalium zu dem in Fig. 1 benutzten Agar.

Fig. 3. Ammenwachstum der IB bei Zusatz von Acrolein zu dem in Fig. 1 verwendeten Agar, der außerdem noch unbestrahltes Ferrocyankalium enthielt. Das Acrolein allein ergab kein Wachstum.

Nachdruck verboten.

Kritische Bemerkungen zum Problem der Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen, sowie einige experimentelle Untersuchungen zu dieser Frage.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg (Stellvertr. Dir.: Prof. Dr. Hilgers).]

Von **W. Möhrke.**

Fast so alt, wie die Erkenntnis, daß der Loefflersche Diphtheriebazillus als spezifischer Erreger der Diphtherie zu gelten hat und daß außer diesem pathogenen Bazillus noch apathogene, ihm morphologisch nahestehende, grampositive Stäbchen im Rachen kranker wie gesunder Personen gefunden werden, ist der Streit um die Frage: Handelt es sich hier wirklich um zwei verschiedene Bakterienklassen oder ist die Identität beider Arten dadurch begründet, daß den Diphtheriebazillen eine solche Wandlungsfähigkeit eigen ist, daß sie sich unter besonderen Existenzbedingungen morphologisch, kulturell und bezüglich der Virulenz weitgehend zu verändern vermögen und somit der Uebergang zu den Pseudodiphtheriebazillen zustande kommt? Diese Frage wurde besonders in den neunziger Jahren des vorigen Jahrhunderts lebhaft diskutiert. Der Streit der Unitarier und Dualisten wurde dann aber allmählich mit der Erkenntnis neuer Methoden der Differenzierung zugunsten der Dualisten begraben.

Diesen Streit hier im einzelnen zu erörtern wäre ein müßiges Unternehmen, da er genugsam bekannt ist; zudem findet sich bei Schmitz eine kurze aber in den Hauptpunkten recht eingehend orientierende Darstellung.

Zu Anfang des 20. Jahrhunderts schien die Ansicht der Dualisten maßgebend geworden zu sein; und auch heute noch geht die Auffassung in der Praxis dahin, daß bei bakteriologischer Differenzierung im Laboratorium die echten Diphtheriebazillen von den Pseudodiphtheriebazillen nach den im Laufe der Zeit bekannt gewordenen Methoden zu unterscheiden sind.

Wie die Ergebnisse der Variabilitätsforschung bezüglich des Problems der Identität der Corynebakterien zu bewerten sind, wird im folgenden näher darzulegen sein. Vorweg mag hier darauf hingewiesen werden, daß auch die Variabilitätsforschung bisher keine überzeugenden Beweise für den Uebergang der Diphtheriebazillen in Pseudodiphtheriebazillen schlechtweg im Sinne des Unitarismus erbringen konnte. In einer neueren Arbeit kommt auch Pesch bei Studien über das Variabilitätsproblem bei den Diphtheriebazillen zu der Ueberzeugung, daß sich experimentell keine Stütze für den Unitarismus finden läßt.

Der Unitarismus kann heute als überwundener Standpunkt gelten. Die Forschungsrichtung der letzten Jahre spezialisiert sich bereits dahin, daß eine weitere Unterteilung der beiden Hauptgruppen, der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen, erstrebt wird.

Pesch teilt das genus Corynebakterium in sechs Gruppen. I. Die echten Loefflerschen Diphtheriebazillen, die sich bei Rachen- und Nasendiphtherie, aber auch auf Wunden, Haut, Augenbindehaut und gesunder Nasenschleimhaut finden können. II. Die v. Hofmannschen Pseudodiphtheriebazillen. III. Diphtheroide Stämme mit üppigem Wachstum auf Blutagar und gutem Zuckerspaltungsvermögen. Hierher gehören a) der Lubinskische Paradiphtheriebazillus, die Saccharosevergärer und b) Rohrzucker nicht angreifende Stämme; alle diese Stämme sind avirulent. IV. Stämme mit geringer Wachstumsintensität. Untergruppe IVa) mit zwei endständigen Polkörnern, IVb) mit einer Reihe von Körnchen. Alle diese Stämme kommen insbesondere auf Haut, Bindehaut und Wunden vor und werden daher von Pesch als Xerose-Gruppe zusammengefaßt. V. Farbstoffbildner. VI. Stämme mit Besonderheiten, die sich nicht zwanglos in die anderen Gruppen einordnen lassen.

Hammerschmidt unterscheidet auf Grund bestimmter Bindung folgender Merkmale: der kulturell-morphologischen Eigenschaften, der Säure- oder Alkalibildung, des hämotoxischen und serologischen Verhaltens innerhalb der Gruppe der echten Diphtheriebazillen wieder fünf Untergruppen.

Und doch ist der Unitarismus noch nicht ganz überwunden! Als Rufer im Streit bekennt sich bis heute der Ophthalmologe Schanz zum Unitarismus. Seine Ansicht geht dahin, daß Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen absolut identische Mikroorganismen sind. Alle bisher aufgestellten Unterscheidungsmerkmale seien trügerisch; es lassen sich weder morphologisch noch kulturell prinzipielle Unterschiede feststellen. Die Pathogenität sei kein ausreichendes Unterscheidungsmerkmal, da sie in der Bakteriologie kein Kriterium sei, um sonst identische Bakterien als verschiedene Arten hinzustellen. Auch die Körnchenfärbung nach Neißer sei so variabel, daß sie nicht zur Unterscheidung verwertet werden könne. Schanz geht sogar soweit, daß er behauptet, unsere jetzigen Anschauungen über die Aetiologie der Diphtherie ließen sich nicht mehr aufrecht erhalten, wenn die giftigen und ungiftigen Loefflerschen Bazillen identisch sind. Ein so weit verbreitetes Luftstäbchen, wie dieser Bazillus, könne nicht, ohne daß dabei noch ein uns völlig unbekannter Faktor mitwirke, als Erreger einer so exquisit epidemischen Erkrankung, wie der Diphtherie, angesehen werden. Die Schnelldiagnose der Diphtherie hat sich nach Schanz bisher nicht bewährt, so daß den Aerzten das klinische Bild allein wieder maßgebend werden wird, ehe der Bakteriologe über Giftigkeit oder Ungiftigkeit der Bazillen entscheiden kann. Dadurch, daß man die Schnelldiagnose zur Grundlage der Differenzierung gemacht habe, seien z. B. die Statistiken über den Wert des Heilserums alle wertlos geworden.

Schanz vertritt seinen hier kurz skizzierten Standpunkt bereits seit dem Jahre 1894. Es sind im Laufe der Zeit nicht weniger als ca. 20 diesbezügliche Mitteilungen

von ihm bekannt geworden, von denen ich diejenigen noch anführen möchte, die seine Ansicht präzisieren.

In einem Aufsatze „Zur Aetiologie der Diphtherie" hebt er hervor, daß der sogenannte „Xerosebazillus" nicht mehr als Erreger der Xerose gelte. Er ist vielmehr ein häufiger Bewohner des Konjunktivalsackes. Der einzige Unterschied von den echten Loeffler-Bazillen liegt in der Tierpathogenität; zudem schwankt die Pathogenität der Diphtheriebazillen in weiten Grenzen. Der Virulenzunterschied allein kann nicht ausreichend sein, um eine Trennung zu begründen, wenn nicht noch andere Unterscheidungsmerkmale gefunden werden. Der Xerosebazillus ist ein Diphtheriebazillus von geringerer Giftigkeit. Diese Feststellung sei sehr wichtig für unsere Anschauung von der Aetiologie der Diphtherie. In einer anderen Mitteilung weist Schanz darauf hin, daß es Loeffler-Bazillen aller möglichen Giftigkeitsgrade gäbe. Giftige und ungiftige seien identisch. Der Loeffler-Bazillus gedeihe bei Entzündungen besonders gut und erlange hier erst seine Virulenz. In der Arbeit „Ueber die Schnelldiagnose des Loefflerschen Diphtheriebazillus" erwähnt Schanz den Versuch Trumpps, der ungiftige Pseudodiphtheriebazillen in tierpathogene überführen konnte. Es sei demnach nicht ausgeschlossen, daß der Pseudodiphtheriebazillus in den echten Diphtheriebazillus übergehen könne. Die Auffassung, daß der sogenannte Xerosebazillus ein apathogenes Luftstäbchen sei (Zur Schnelldiagnose des Diphtheriebazillus), sei jetzt allgemein geltend. Er ist identisch mit den Pseudodiphtheriebazillen des Rachens. Die Bezeichnung „Xerosebazillus" verdankt er dem Umstande, daß er von Ophthalmologen vorübergehend irrtümlich für den Erreger der Xerose gehalten wurde. Man sollte demnach den Namen „Xerosebazillus" fallen lassen (Ueber den Diphtheriebazillus). Die Giftigkeit der Diphtheriebazillen erscheint als erworbene Eigenschaft; wenn die Versuche Trumpps nicht vereinzelt dastünden, könnte man es als erwiesen ansehen, daß Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen identische Mikroorganismen seien. Die Ansicht, daß keine stichhaltigen Unterschiede zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen vorhanden sind, belegt Schanz dann im einzelnen auch durch Literaturhinweise in der Arbeit: „Der sogenannte Xerosebazillus und die ungiftigen Loefflerschen Bazillen". In dem Aufsatze: „Zu v. Behrings neuester Diphtherietheorie" kommt Schanz sogar zu der Auffassung: der Loeffler-bazillus ist nicht pathogen für die Diphtherie. Es muß noch etwas, das „Y" Pettenkofers, hinzukommen; dieses kennen wir vorläufig noch nicht. Hier bekennt sich Schanz offen als Anhänger des Unitarismus. Noch schärfer ist seine Stellung zur Diphtheriefrage in einer Mitteilung präzisiert, die im Reichsmedizinalanzeiger erschien. Die Diphtherie ist eine Infektionskrankheit, deren Erreger noch nicht bekannt ist. Der Diphtheriebazillus spielt dabei nur durch Bildung giftiger Stoffwechselprodukte eine sekundäre Rolle. „Ein Bazillus, der überall und zu jeder Zeit auf den Schleimhäuten vorkommt, kann nicht der Ueberträger der Diphtherie sein."

Schanz ist, wie er selbst angibt, in Deutschland mit seiner Ansicht allein geblieben. Er hat es verabsäumt, seine völlig unbewiesenen Behauptungen durch Untersuchungen zu stützen. Deshalb konnte Flügge mit Recht schreiben: „Wir müssen Ihre gegenteiligen Ansichten auch für völlig unbewiesen halten und sehen nicht ein, weshalb wir zur Publikation solcher unserer Meinung nach unbewiesenen Behauptungen beitragen sollten".

Zum mindesten hätte Schanz durch experimentelle Studien den exakten Nachweis seiner Behauptung bringen müssen, daß die Uebertragung der Diphtherie ohne den Loefflerschen Bazillus möglich ist. Anderseits vermißt man in seinen Arbeiten Versuche, die das nach seiner Ansicht bei der Uebertragung der Diphtherie erforderliche „Y" Pettenkofers ermitteln könnten, sowie überhaupt Studien über die Variabilität des genus Corynebakterium, die dann vielleicht dem Unitarismus eine neue Stütze geben würden.

Statt solche Untersuchungen anzustellen, sucht Schanz vielmehr aus der Literatur sich diejenigen Arbeiten heraus, in denen Ansichten geäußert sind, die seinen Behauptungen entsprechen, ohne den durch viele gründliche Untersuchungen gestützten gegenteiligen Standpunkt zu würdigen.

Schanz hebt ferner hervor, daß Pseudodiphtheriebazillen sehr häufig zu Verwechslung mit echten Diphtheriebazillen Anlaß geben. Um diese Angabe einer Kritik unterziehen zu können, mögen hier noch einige Angaben der Literatur über das Zahlenverhältnis der Diphtheriebazillen zu den Pseudodiphtheriebazillen angeführt werden, welches von den einzelnen Autoren gefunden wurde. Die Angaben differieren inner-

halb weiter Grenzen. V. Przewoski fand bei seinen Untersuchungen die Häufigkeit der echten Pseudodiphtheriebazillen zu den echten Diphtheriebazillen etwa zu 9,1 Proz. Seligmann konnte unter 36 Fällen 7mal Pseudodiphtheriebazillen züchten, fand sie also in 24 Proz. der Fälle. Walter fand wieder die Pseudodiphtheriebazillen ganz außerordentlich häufig. Er konnte bei den von ihm untersuchten Fällen, soweit ich seine Angaben übersehen kann, 45mal echte Diphtheriebazillen und 52(!)mal Pseudodiphtheriebazillen züchten. Zu einem diametral entgegengesetzten Resultate gelangte Scheller. Er untersuchte insgesamt ca. 5000 Eingänge und fand unter den letzten 1500 Fällen zahlreiche echte Diphtheriebazillen und keinen einzigen Pseudodiphtheriebazillus. Einig sind sich die Untersucher nur in dem Punkte, daß die Abgrenzung der echten Diphtheroiden von den Diphtheriebazillen mit Sicherheit gelingt. Schwierigkeiten machen nur die atypischen avirulenten und besonders die typischen avirulenten Bazillen bei der üblichen Schnelldiagnose, bei der man sich nur der Neißer-Färbung und eventuell der Färbung mit Loefflers Methylenblau bedient. Diese Formen sind nach Schmitz sehr selten. Seligmann fand unter 36 Diphtheriebazillen 2 atypische Formen, also in 5,5 Proz. Diese Zahl kann aber nicht als allgemeingültig angesehen werden, da Seligmann zu seinen Spezialuntersuchungen gerade Rekonvaleszenten heranzog, bei denen die atypischen Formen noch relativ am häufigsten sind. Seligmann hat seiner Angabe nach unter 42 Fällen einmal eine Fehldiagnose gestellt, also in ca. 2,3 Proz. der Fälle. Hieraus ersieht man, daß die Zahl der Irrtümer doch nur recht gering sein kann. Auch die überwiegende Mehrzahl der anderen Autoren, die sich zu dieser Frage äußern, stellt sich auf den Standpunkt, daß Fehldiagnosen recht selten sind.

Der prinzipielle Fehler der Schanzschen Auffassung beruht darauf, daß er einerseits von Pseudodiphtheriebazillen schlechtweg spricht, ohne Unterschiede zwischen den echten Diphtheroiden und den atypischen Diphtheriebazillen zu machen, die ja auch üblicherweise als Pseudodiphtheriebazillen bezeichnet werden. Dadurch kommt schon ein Moment der Verwirrung in seine Darstellung. Anderseits überträgt Schanz unberechtigterweise die bisher für eine besondere Klasse der Pseudodiphtheriebazillen zum mindestens ganz außerordentlich wahrscheinlich gemachte Verwandtschaft mit den Diphtheriebazillen auf die ganze Klasse der Diphteroiden. So kommt er schließlich auf Grund dieser Anschauung zwingend zu der Lehre von der Intensität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen im allgemeinsten Sinne.

Wenn Schanz nun bis in die neueste Zeit seine Ansicht — und zwar wie man zugeben muß nicht ohne Geschick — vertritt, so ist darin eine Gefahr für die Auffassung des praktischen Arztes zu erblicken. Denn der Praktiker, der sich naturgemäß nicht eingehend mit diesen Fragen beschäftigen kann, wird leicht aus den Bemerkungen von Schanz den Eindruck gewinnen, als ob die bakteriologische Diagnose ein längst überwundener Standpunkt wäre, daß die Bakteriologie in dieser Frage nicht kompetent und nur noch das klinische Bild maßgebend sei. Sollten anderseits die Ansichten von Schanz wirklich begründet sein, so folgt daraus, daß die bakteriologische Diagnose der Diphtherie tatsächlich überflüssig ist.

Jedenfalls können die Behauptungen von Schanz aus den angeführten Gründen nicht einfach unberücksichtigt bleiben. Es ist die

Pflicht de. Bakteriologen, auch solche unbewiesenen Ansichten einer unparteiischen Prüfung zu unterziehen, zumal es sich um eine Frage von prinzipieller Bedeutung handelt.

Ich möchte durch meine Untersuchungen einen Beitrag zu der von Schanz wieder aufgenommenen Frage bringen: Ist der Diphtheriebazillus mit dem Pseudodiphtheriebazillus identisch, oder handelt es sich um zwei verschiedene Gruppen von Mikrorganismen?

Diesbezügliche experimentelle Studien können in 3 Richtungen unternommen werden. Der erste Wege bestände darin, das morphologische und kulturelle Verhalten des genus Corynebacterium erneut einer Prüfung zu unterziehen, eine Arbeit, die nichts wesentlich Neues bringen könnte, da es bereits bekannt ist, daß die Diphtheriebazillenstämme bei Züchtung unter geeigneten Bedingungen morphologisch und kulturell so variabel sind, daß sich die Unterscheidungsmerkmale verwischen.

Dagegen scheint, wie aus den Angaben verschiedener Autoren hervorgeht, das serologische Verhalten beider Bazillenklassen ziemlich konstant zu sein. Wenn z. B. bei Agglutinationsversuchen in dem Sinne Ergebnisse erzielt würden, daß Loefflerstämme so beeinflußt werden können, daß sie durch das Serum eines mit Pseudodiphtheriebazillen vorbehandelten Tieres agglutiniert werden, so würde dies Ergebnis schon eher für die Identität der Stämme sprechen.

Als wesentliches Unterscheidungsmerkmal der echten Loeffler- und der Pseudodiphtheriestämme ist von den Dualisten die Virulenz angesehn worden. Der Kernpunkt der Frage ist demnach der: Ist es möglich, echte Pseudodiphtheriebazillen durch geeignete Versuchsbedingungen virulent zu machen? Positive Ergebnisse würden für die Richtigkeit der Schanzschen Ansicht entscheidend ins Gewicht fallen.

Es mögen die bisher erzielten Resultate, die für die Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen sprechen, zunächst einer Kritik unterzogen werden.

Roux und Yersin glaubten als Erste die Identität erwiesen zu haben. Sie impften ein Meerschweinchen subkutan mit einer Mischung von Pseudodiphtheriebazillen und hochvirulenten Streptokokken und sahen, daß die Pseudodiphtheriebazillen nach Herauszüchtung und Verimpfung auf ein anderes Tier nunmehr virulent waren. Von den Autoren sind anscheinend nur zwei solche Versuche angestellt worden. Es steht zudem keineswegs fest, daß dabei tatsächlich ein echter diphtheroider Stamm benutzt wurde. Damals waren nur wenige Methoden zur Differenzierung bekannt; man kannte auch noch nicht die Neißersche Körnchenfärbung. Es kann sich also sehr wohl um einen atypischen avirulenten Stamm im Sinne Neißers gehandelt haben. Nach Schmitz präzisiert Neißer den Standpunkt der Dualisten dahin, daß das ganze genus Corynebacterium einzuteilen ist in: A) 1. typische virulente Diphtheriebazillen, 2. typische avirulente, 3. atypische virulente, 4. atypische avirulente und B) diphtheroide Bazillen. Nach Schmitz ist der typische Diphtheriebazillus durch folgende Merkmale chrakterisiert: 1. durch seine Gestalt, 2. durch die Polkörperbildung, 3. anaerobes Wachstum, 4. Rötung und Trübung des Thiel schen Nährbodens und 5. durch die Virulenz. Atypisch sind solche Bazillen, die sich, abgesehen davon, daß sie eventuell avirulent sind, noch in einem der 4 anderen Punkte abweichend verhalten. Als Diphtheroide sind Stämme zu be-

zeichnen, die in mehr als einem Punkte abweichen und außerdem noch avirulent sind. Roux und Yersin reden nur schlechtweg von „Pseudodiphtheriebazillen" ohne ihren Bazillus irgendwie beschrieben zu haben oder Angaben über nähere Differenzierung zu machen. Da der Stamm nicht einwandfrei als echter diphtheroider klassifiziert wurde, fehlt den Versuchen jede Beweiskraft.

Weiterhin gab Trumpp durch einen einzigen Versuch einen Beitrag zu der Identitätsfrage beider Bazillenklassen. Er nahm an, daß bei den Versuchen von Roux und Yersin nicht die Streptokokken den Pseudodiphtheriebazillus virulent gemacht hatten, sondern daß das Meerschweinchen durch Behandlung mit den Streptokokken in seiner Widerstandskraft geschwächt war und dann infolge des Marasmus dem Pseudodiphtheriebazillus einen geeigneten Angriffspunkt bot, so daß er schließlich virulent wurde. Zufolge dieser Ueberlegung behandelte er das Tier zur Erzielung des gleichen Resultates zuerst mit einer untertödlichen Dosis von Diphtherietoxin und injizierte dann einen Pseudodiphtheriestamm, der aus einer Wunde gezüchtet war. Dieser avirulente Stamm wurde virulent!

Trumpp beschreibt ihn näher: Er war zunächst morphologisch atypisch, zeigte keine Körnchenfärbung, bildete aber Säure und wuchs anaërob. Es zeigte sich, daß der Stamm im Laufe der Zeit bei wiederholten Abimpfungen aus der Wunde immer typischer wurde; er wurde morphologisch diphtherieähnlich und bildete dann auch regelmäßig Polkörper. Es handelt sich also anfangs um einen Diphtheroiden im Sinne von Neißer und Schmitz, da er in zwei Punkten atypisch war, aber nicht um einen vollkommen diphtheroiden Stamm. Es ist sehr wahrscheinlich, daß doch ein echter Diphtheriestamm vorlag, der infolge des Einflusses der besonderen Lokalisation in einigen Punkten variierte.

Auch Trumpp hat also nicht überzeugend dargetan, daß echte Pseudodiphtheriebazillen virulent werden können.

Es wären an dieser Stelle noch zwei ältere Arbeiten von Hewlett und Knight und Salter zu erwähnen, denen es ebenfalls angeblich gelungen ist, Pseudodiphtheriebazillen virulent zu machen. Eine genaue und zuverlässige Beschreibung bzw. Sicherstellung der Diagnose, daß ein echter diphtheroider Stamm im Sinne Neißers benutzt wurde, vermißt man in diesen Arbeiten ebenso wie in denjenigen von Roux und Yersin und Trumpp.

Mehrfach sind Versuche geglückt, in denen es den Autoren gelang, einen echten typischen Diphtheriebazillus der Mehrzahl seiner Merkmale zu berauben, so daß schließlich ein in allen fünf Punkten veränderter Stamm gezüchtet wurde. Ich erwähne als hauptsächliche einschlägige Arbeiten diejenigen von Baerthlein, Bernhardt und Paneth, Klinger und Schloch und Schmitz; diese Autoren konnten mehr oder weniger weitgehende Umwandlungen der echten Diphtheriebazillen feststellen. Bitter und Gundel vermochten in Nährmedien von bestimmter Wasserstoffionenkonzentration innerhalb 48 Std. einen pathogenen Diphtheriestamm in einen apathogenen Stamm und wieder zurück zu verwandeln. Man kann den Verlust der Virulenz und der sonstigen Eigenschaften der echten Diphtheriebazillen nicht einfach als Degenerationserscheinung auffassen; ebenso wäre die gegenteilige Auffassung gerechtfertigt, daß wie Schmitz schon bemerkt der Gewinn an Virulenz, die Bildung von Polkörpern usw. als Degeneration zu bezeichnen ist, so daß also der echte Pseudodiphtheriebazillus der eigentliche Typ des Diphtheriebazillus wäre.

Bewiesen ist durch die bisherigen Versuche lediglich, daß es gelingt, echte Diphtheriebazillen so weitgehend zu variieren, daß sie den Pseudodiphtheriebazillen ähnlich werden. Mag die Aehnlichkeit auch im einzelnen Falle zuweilen auffallend sein, so muß doch streng zwischen Aehnlichkeit und Identität unterschieden werden.

Ein strenger Beweis für die Identität beider Klassen von Mikroorganismen ist durch die oben erwähnten Arbeiten nicht gegeben. Auch Klinger und Schoch erkennen an, daß durch ihre mitgeteilten Befunde und die bisher bekannten Tatsachen keine eigentlichen Beweise erbracht werden. Ebensowenig behauptet Schmitz, der besonders umfangreiche Untersuchungen über diesen Gegenstand veröffentlicht hat, daß durch seine Versuche die Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen erwiesen wäre. Er machte den Vorschlag, den Beweis dadurch exakt zu führen, daß man von Diphtheriekranken Diphtheriestämme züchtet, mit diesen ein ablenkendes Serum herstellt und dann Ablenkungsversuche mit Diphtheroiden anstellt, die sich in der Rekonvaleszenz desselben Kranken finden. Damit würde aber immer noch kein Identitätsbeweis gegeben sein, der für alle Pseudodiphtheriebazillen gilt, denn die Diphtheroiden bei Rekonvaleszenten sind ja eben wahrscheinlich aus den Diphtheriebazillen hervorgegangen und meistens nur in einigen Punkten atypisch; sie sind also nicht als echte Diphtheroide anzusehen, die natürlich gelegentlich auch neben Diphtheriebazillen und deren Wandlungsformen bei Rekonvaleszenten gefunden werden können, da sie als Luftstäbchen ubiquitär sind. Schmitz unterscheidet wie die anderen Autoren nicht exakt genug zwischen atypischen Formen der Gruppe A nach Neißer und der Gruppe B und redet öfter von Pseudodiphtheriebazillen schlechtweg, wo eine genaue Klassifizierung am Platze wäre. Daß die Formen der Gruppe A, die sich vorzugsweise bei Rekonvaleszenten finden, zum Typus zurückkehren und sich so als Varianten der echten Diphtheriebazillen erweisen, ist sehr wahrscheinlich gemacht worden. Es ist aber nicht zulässig, bei Studien über Variabilität von Pseudodiphtheriebazillen schlechtweg zu sprechen, sondern die Formen der Gruppe A müssen von den Formen der Gruppe B sorgfältig unterschieden werden.

Schmitz erwähnt, daß die Diphtheroiden bei Rekonvaleszenten und die aus echten Diphtheriestämmen gezüchteten Pseudodiphtheriebazillen in fast allen Fällen nur in einigen Punkten vom Typus der echten Diphtheriebazillen abweichen, während die anderorts in der Natur vorkommenden Diphtheroiden in allen Punkten atypisch sind. Das ist zwar kein Beweis, aber doch immerhin ein Hinweis dafür, daß hier Grenzen gezogen werden müssen, die bisher zu wenig beachtet worden sind.

Durch die bekannt gewordenen Versuche ist wie gesagt nur erwiesen worden, daß es gelingt, echte Diphtheriebazillen so zu verändern, daß sie den Pseudodiphtheriebazillen ähnlich werden. Der Nachweis der Identität wäre erst dann erbracht, wenn es gelungen wäre, einen echten einwandfrei diagnostizierten Pseudodiphtheriebazillus virulent zu machen, also das nach Schanz so weitverbreitete Luftstäbchen, welches in allen fünf Merkmalen vom Typus der Diphtheriebazillen abweicht. Das ist bisher noch niemand gelungen. Als erwiesen anzusehen ist nur, daß innerhalb der Gruppe A nach Neißer der virulente Diphtheriebazillus avirulent werden kann, daß die anderen Formen

der Gruppe A, die man eben gemeinhin auch als Pseudodiphtheriebazillen bezeichnet, virulent werden können. Ob hier die Bezeichnung „Pseudodiphtheriebazillus" ganz zu Recht besteht, mag noch dahin gestellt bleiben. Ein Beitrag zu der Virulenzfrage bei den von allen diesen Formen gerade am häufigsten vorkommenden echten Diphtheroiden ist nach den obigen Darlegungen eigentlich noch nicht gegeben worden, da bei den in Frage kommenden Versuchen nicht sicher festzustellen ist, daß echte Diphtheroide der Gruppe B benutzt wurden. Damit war die Fragestellung des experimentellen Teiles dieser Arbeit gegeben und nach diesem Gesichtspunkte wurde auch die Auswahl des Materials geleitet.

Es ist zuvor noch die Frage nach der Verbreitung und dem Vorkommen der echten Diphtheroiden kurz zu erörtern. Schanz vertritt die Theorie, daß die Pseudodiphtheriebazillen als harmlose Luftstäbchen ubiquitär sind. Bekannt ist, daß sie häufig im Nasen-Rachenraume des Menschen, auf der Augenbindehaut, in Wunden und auf der Haut gefunden werden. Nach Schanz gelangen sie aus der Luft auf die Bindehaut und dringen dann durch den Tränennasengang weiter vor. Trotz des relativ häufigen Vorkommens auf der Bindehaut scheinen sie jedoch in der Außenwelt weniger verbreitet zu sein. Kißkalt und Berend konnten bei Durchmusterung von Erdproben, Blättern, Zweigen usw. bei Bearbeitung eines großen Materials nur einen Stamm finden; dieser Bazillus stammte wahrscheinlich nach Angabe der Autoren aus der Luft. Bitter und Gundel fanden im Rachen von Meerschweinchen recht häufig Diphtheroide, und zwar in ca. 50 Proz. der Fälle bei Tieren, die mit gemischter Kost gefüttert worden waren. Ich kann diese Angaben bestätigen, fand den Bazillus aber nur in 8 Proz. der Fälle bei 40 Tieren unseres Stalles. Demnach scheint der Pseudodiphtheriebazillus tatsächlich ein weitverbreitetes Stäbchen zu sein, dessen Uebertragung vielleicht durch die Luft erfolgt, eine Annahme, die dadurch noch eine weitere Stütze erhält, daß auch Minett Diphtheroide von der Augenbindehaut und aus der Nase von Pferden züchten konnte.

Das zu meinen Versuchen benutzte Material entstammte verschiedenen Quellen. Ich hatte Gelegenheit, 80 Fälle der Universitätsaugenklinik mit verschiedenen Krankheitsbildern und 60 Fälle der Universitätskinderklinik zu untersuchen, von denen keiner klinisch das Bild der Diphtherie bot; zudem stand mir das Material des Untersuchungsamts zur Verfügung. Hier wurde im besonderen versucht, Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen aus eingesandtem Material von Rekonvaleszenten herauszuzüchten. Die Augenbindehaut von 60 erwachsenen Personen der Augenklinik ergab viermal einen Pseudodiphtheriebazillus (in der Tab. A 1—4). Von 20 augenkranken Kindern konnte dreimal ein Diphtheroider (A 5—7) und zweimal ein echter Loeffler-Bazillus (DA 1—2) isoliert werden. Das Material der Kinderklinik (Säuglinge) ergab dreimal den Pseudodiphtheriebazillus (K 8—10). Es wurde so vorgegangen, daß bei jedem Falle Nasen- und Rachenabstriche der Kinder untersucht wurden. Von dem eingesandten Material, das von Rekonvaleszenten stammte, wurden drei echte Loeffler-Stämme (DR 3—5) isoliert, zudem verfügte ich über zwei solcher Fälle, in denen neben echten Diphtheriebazillen (DR 6—7) auch noch Pseudodiphtheriebazillen (R 11—12) gefunden wurden.

Um gleich das Ergebnis der Virulenzprüfung vorwegzunehmen, zeigte sich, daß durch die vorläufige mikroskopische Diagnose sämt-

liche Pseudodiphtheriestämme klar als solche erkannt wurden. Ueberhaupt war die Morphologie dieser Diphtheroiden, obwohl sie aus den verschiedensten Quellen stammten, so einheitlich, daß ein Irrtum von vornherein ausgeschlossen schien.

Die Stämme wurden alle auf Aszitesagar reingezüchtet und dann auf diesem Nährboden in Intervallen von 14 Tagen weiter überimpft. Auch die echten Loeffler-Stämme bildeten hier nur selten und dann auch nur bei vereinzelten Individuen Polkörper, die sofort nach Uebertragung auf Loeffler-Serum, sogar nach sechsmonatiger Weiterzüchtung auf Aszitesagar, wieder sehr reichlich auftraten. Nur selten wurde bei Züchtung auf Loefflerschem Nährboden bei den Pseudodiphtheriestämmen spärliche Polkörperbildung beobachtet, meistens nur ein endständiges Körnchen. Dagegen bildeten sämtliche Pseudodiphtheriestämme auf der Blutplatte, namentlich nach zweimaliger Uebertragung, recht reichlich Polkörper und erwiesen dadurch ihre Zugehörigkeit zum genus Corynebacterium.

Interessant sind gerade solche Stämme, die morphologisch typisch, dabei aber völlig avirulent sind und daher in der üblichen Nomenklatur auch als Pseudodiphtheriebazillen angesprochen werden. Da ich diese der Gruppe A nach Neißer angehörigen Stämme aus meinem Material nicht herauszüchten konnte, wandte ich mich an die Přibramsche Sammlung und erhielt 3 typische avirulente Stämme, welche in ihrer Morphologie den echten Loeffler-Bazillen recht nahe standen. Es waren mittellange, ziemlich schlanke, zuweilen auch etwas plumpere Stäbchen. Fast alle Individuen zeigten Polkörperbildung; meistens waren zwei Körnchen in jedem Stäbchen sichtbar, es wurden aber auch drei und mehr beobachtet. PD 12 und PD 13 wuchsen auch anaërob, PD 14 nur aërob. PD 13 rötete den Thielschen Nährboden, PD 12 und PD 14 ließen ihn blau.

Solche Stämme, die den hier beschriebenen gleichen, können bei der Schnelldiagnose der Diphtherie Schwierigkeiten machen, scheinen aber wegen der großen Seltenheit ihres Vorkommens für die Praxis der Diagnose nicht erheblich ins Gewicht zu fallen. Es steht mit der Schnelldiagnose der Diphtherie doch nicht so schlimm, wie Schanz meint, daß dadurch alle Statistiken, die darauf fußen, wertlos werden.

Kulturell wiesen die von mir untersuchten Pseudodiphtheriestämme größere Differenzen auf, als in morphologischer Beziehung. Die meisten Stämme zeigten wesentlich langsameres Wachstum auf der Aszitesplatte, als die Diphtheriebazillen; vier Stämme wuchsen ziemlich schnell heran. Die anderen mußten zwei Tage bebrütet werden, bis die Kolonien eine Größe von ca. 1 mm Durchmesser erreicht hatten. Sie wuchsen dann freilich bei Zimmertemperatur noch weiter und erreichten in einigen Tagen oft recht stattliche Größe, manche bis zu etwa 1 cm Durchmesser. Die Farbe der Kolonien war bei den Pseudodiphtheriebazillen zumeist porzellanweiß, bei einigen Stämmen zeigten sie eine graue Farbe, ebenso bei denjenigen der Přibramschen Sammlung. Farbstoffbildner hatte ich leider nicht zur Verfügung. Sämtliche echten Loeffler-Stämme zeigten auf der Aszitesplatte einen grauen Farbton, der sich von der des Nährbodens kaum unterschied. Einzelstehende Kolonien erreichten nach einigen Tagen höchstens die Größe von ca. 3 mm Durchmesser.

Ich hebe besonders hervor, daß die zu dieser Arbeit benutzten echten Diphtheroiden in allen fünf Punkten atypisch waren. Sie stellten

sich morphologisch als zuweilen von Kokken schwer abgrenzbare plumpe Kurzstäbchen dar, die in Häufchen unregelmäßig gelagert, aber auch vielfach palisadenförmig angeordnet waren. Sie hatten keine, bzw. nur sehr vereinzelte Polkörperchen (meistens ein endständiges Körnchen), wuchsen nicht anaërob, änderten auch nicht die Farbe des Thielschen Nährbodens und waren avirulent.

Ich beabsichtigte anfangs, zur Virulenzprüfung die Römersche Intrakutanmethode anzuwenden, da Schmitz mit dieser Methode, wie aus den Tabellen seiner Arbeit hervorgeht, brauchbare Ergebnisse erzielt hatte, mußte mich aber davon überzeugen, das ganz unzuverlässige Resultate erhalten wurden. Einige sicher hochvirulente Diphtheriestämme verursachten bei der Intrakutanimpfung genau wie die Diphtheroiden nur kleines Infiltrat und geringe Rötung ohne Nekrose zu bilden. Andere riefen wieder ein größeres Infiltrat mit Nekrose hervor. Zuweilen verhielt sich ein und derselbe Stamm bei wiederholter Impfung verschieden und verursachte einmal eine geringe Rötung, das andere Mal Nekrose. Ich verimpfte darauf als Kontrolle auch Bacterium Coli intrakutan mit dem Erfolge, daß dieses Bakterium genau dieselbe Rötung und dasselbe Infiltrat hervorrief, wie die echten Diphtheriestämme und die Diphtheroiden.

Mit Rücksicht auf das doch recht unzuverlässige Ergebnis, welches ich mit der Intrakutanmethode erzielte, wandte ich zur Virulenzprüfung wieder die alte Subkutanmethode an. Die Impfung geschah so, daß die auf Loeffler-Nährboden gezüchteten, mit je 5 ccm NaCl-Lösung abgeschwemmten Bazillen in Dosen von 1 ccm einem Meerschweinchen subkutan verimpft wurden. Ich kam zu folgendem Resultate: Die 5 echten Diphtheriestämme waren sämtlich hochvirulent, die drei typischen avirulenten Stämme sowie alle Diphtheroiden waren avirulent.

In den folgenden Versuchen wurde das agglutinatorische Verhalten der echten Diphtherie- und der echten Pseudodiphtheriestämme geprüft, und zwar nach der von Lubowski angegebenen, von van Riemsdijk und von v. Przewoski ausgebauten Methode. Ein Kaninchen wurde mit einer Aufschwemmung von 5 echten Pseudodiphtheriekulturen, die 1 Std. auf 60° erhitzt war, im Abstande von je einer Woche 3mal intravenös immunisiert, das erste Mal wurde je $^1/_2$ Oese Bakterienmaterial in 1 ccm NaCl aufgeschwemmt, das zweite Mal je 1 Oese, das dritte Mal ebenfalls je 1 Oese gegeben. Nach vier Wochen seit Beginn der Behandlung wurde das Kaninchenserum zur Agglutination verwendet. Die zur Agglutination benutzten Bazillen wurden nicht in Bouillon gezüchtet, denn Lubowski weist darauf hin, daß das Serum mit saueren Bouillonkulturen eventuell Koagulationserscheinungen zeigt, welche Agglutination vortäuschen können. Van Riemsdijk erzielte mit Bazillen, die auf Loeffler-Nährboden gewachsen waren, gute Resultate; nach v. Przewoski eignet sich Aszitesagar noch besser. Ich wählte gleichfalls Aszitesagar als Nährsubstrat. Die Aufschwemmung der Kulturen wurde zunächst mit Glasperlen geschüttelt, dann sorgfältig im Röhrchen verrieben, $2^1/_2$ Std. im Wasserbade bei 50° C gehalten und schließlich filtriert. Es entstand so eine vollkommen homogene Emulsion. Die Behandlung mit Glyzerin nach Lubowski erschien unnötig, da die Emulsion selbst bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung keinerlei Flocken aufwies. Auch van Riemsdijk hält Glyzerinzusatz für unnötig.

Bei Ablesung der Agglutination ist die mikroskopische Betrachtung mit Oelimmersion a priori zu verwerfen, da infolge der Neigung der Corynebakterien zur Verklumpung eine Abgrenzung der Agglutinationshäufchen von natürlich verklumpten Haufen sehr schwierig ist. Ich zog daher die Beobachtung im Woitheschen Agglutinoskop und die makroskopische Betrachtung vor. Die Röhrchen wurden im Brutschrank gehalten, die Agglutination nach $2^1/_2$ und 24 Std. abgelesen.

Tabelle I.

Stamm	Ergebnis nach		Serumkonzentration				
			$^1/_{20}$	$^1/_{40}$	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{500}$
A_1	$2^1/_2$ Std.		++	++	+	+	+
		24 Std.	+++	+++	+++	+++	+++
A_2	„		++	++	+	+	+
		„	++	++	++	++	++
A_3	„		+	+	+	+	+
		„	+++	+++	+++	+++	+++
A_4	„		++	+	+	+	+
		„	+++	+++	+++	++	++
A_5	„		++	++	+	+	+
		„	++	++	+	+	+
A_6	„		+++	+++	++	++	++
		„	+++	+++	+++	+++	+++
A_7	„		+	+	+	+	(—)+
		„	+++	+++	+++	+++	+++
K_8	„		+	+	(—)+	(—)+	(—)+
		„	++	++	++	++	++
K_9	„		+	+	+	+	(—)+
		„	+++	+++	++	++	++
K_{10}	„		+	+	+	+	+
		„	++	++	+	+	+
R_{11}	„		++	++	++	+	(—)+
		„	+++	+++	+++	+++	++
R_{12}	„		+	+	(—)+	(—)+	(—)+
		„	++	++	++	++	++
PD_{13}	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
PD_{14}	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
PD_{15}	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
DA_1	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
DA_2	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
DR_3	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
DR_4	„		—	—	—	—	—
		„	—	—	—	—	—
DR_5	„		—	—	—	—	—

(—)+ = beginnende Agglutination, + = Agglutination, ++ = sehr deutliche Agglutination, +++ = vollständige Ausflockung.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß sich die Gruppe der echten Diphtheroiden serologisch einheitlich verhält. Gleichzeitig mit den Serumverdünnungen wurde eine Kochsalz- und Serumkontrolle geführt, die in der Tabelle der Raumersparnis wegen nicht angeführt ist.

Spontanagglutination mit Kochsalz oder Serum wurde in keinem Falle beobachtet. Interessant ist das Ergebnis, daß die avirulenten typischen Diphtheriestämme von dem polyvalenten Pseudodiphtherieserum nicht agglutiniert wurden; somit ist erwiesen, daß sie nicht mit den echten Diphtheroiden serologisch verwandt sind, sondern doch wohl in die Gruppe A nach Neißer gehören.

Auch Schmitz ist es nicht gelungen, bei seinen durch Meerschweinchenpassage in allen fünf Punkten veränderten Diphtheriestämmen eine serologische Verwandtschaft mit den echten Pseudodiphtheriebazillen festzustellen. Die weitgehend veränderten Stämme zeigten bei Ablenkungsversuchen immer noch eine geringe Verwandtschaft mit den Ausgangsstämmen; niemals wurde erreicht, daß sie serologisch jede Beziehung zum Ausgangsstamm verloren hatten.

v. Przewoski fand, daß Serum, welches mit echten Diphtheriebazillen vorbehandelt ist, auch Pseudodiphtheriestämme noch bis etwa $^1/_{75}$ agglutiniert und daß umgekehrt Pseudodiphtheriebazillenserum in ungefähr derselben Verdünnung echte Loeffler-Stämme zur Agglutination bringt. Ich kann die Angaben von v. Przewoski nicht bestätigen und fand mit van Riemsdijk, daß das Serum von mit Pseudodiphtheriebazillen vorbehandelten Kaninchen niemals weder echte noch typische avirulente Diphtheriestämme agglutinierte, selbst nicht in einer Verdünnung von $^1/_{20}$. Eine Agglutination von $^1/_{20}$ würde ja ohnehin noch nicht für eine serologische Verwandtschaft beweisend sein. Da das Verfahren bei der Agglutination der Corynebakterien immerhin schwieriger ist, als bei anderen Bakterienarten, so ist daraus vielleicht die geringe Differenz in den Resultaten von v. Przewoski und denjenigen von van Riemsdijk und mir zu erklären.

Es wurden weiterhin Versuche angestellt, um die echten Pseudodiphtheriebazillen womöglich virulent zu machen, und zwar auf der Basis der bereits von Roux und Yersin einerseits und Trumpp andererseits angegebenen Versuche.

Hetsch und Schloßberger berichten von Versuchen, die Pseudodiphtheriebazillen durch Mauspassage virulent zu machen. Sie hatten in sehr zahlreichen Versuchen völlig negative Resultate; ich sah daher von solchen Versuchen ab, da sie aussichtslos erscheinen.

Nach dem Vorgange von Roux und Yersin wurden also Pseudodiphtheriebazillen (insgesamt 15 Stämme) zusammen mit hochvirulenten hämolytischen Streptokokken, die aus eingesandtem Material des Untersuchungsamtes (aus Abszessen) stammten, Meerschweinchen subkutan verimpft. Nachdem das Tier eingegangen war, wurden die Pseudodiphtheriebazillen auf Aszitesplatten rein gezüchtet und wiederum einem Meerschweinchen subkutan verimpft. Der Materialersparnis wegen wurden die Versuche nur einmal angesetzt. In keinem einzigen Falle konnte die Beobachtung gemacht werden, daß die Pseudodiphtheriestämme virulent wurden. Die Tiere waren munter, wurden nicht krank und blieben am Leben; Gewichtsverlust trat nicht ein, örtliche Veränderungen fehlten vollkommen. Morphologisch, kulturell und in ihren sonstigen Eigenschaften veränderten sich die Pseudodiphtheriebazillen in keinem Punkte gegenüber den Ausgangsstämmen.

Weiter wurden nach dem Beispiel Trumpps Meerschweinchen subkutan mit einer untertödlichen Dosis Diphtheriegift behandelt und gleichzeitig mit Pseudodiphtheriebazillen (15 Stämme) subkutan ge-

impft. Die Tiere waren in den folgenden Tagen etwas kränklich; örtlich zeigte sich geringes Infiltrat und Rötung. Gleichzeitig wurden Kontrolltiere mit derselben untertödlichen Dosis Diphtheriegift behandelt. Sie zeigten dieselben Erscheinungen, wie die außerdem noch mit Pseudodiphtheriebazillen geimpften Meerschweinchen. Sämtliche Tiere erholten sich nach einigen Tagen vollständig. Die Stämme wurden aus dem Infiltrat herausgezüchtet und erwiesen sich ebenso wie bei den Versuchen mit gleichzeitiger Streptokokkenverimpfung gänzlich unverändert gegenüber den Ausgangsstämmen.

Auffällig ist der Befund, daß die Stämme PD 13—15, die der Přibramschen Sammlung entstammten und sicherlich keine echten Diphtheroiden im Sinne Neißers gewesen sind, in Versuchen zur Steigerung der Virulenz, die bei diesen Kulturen jedesmal doppelt angesetzt wurden, nicht den geringsten Gewinn an Virulenz zeigten. Zur Erklärung der Tatsache, daß die Stämme PD 13—15 stets avirulent blieben, ist einerseits auf die Angabe von Schmitz zurückzugreifen, welcher fand, daß die durch Meerschweinchenpassage erhaltenen avirulenten Varianten der echten Diphtheriebazillen keineswegs regelmäßig zum Typ zurückkehrten, sondern zuweilen auch beharrlich auf der neugewonnenen Entwicklungsstufe allen Beeinflussungsversuchen zum Trotze stehn blieben. Anderseits ist denkbar, daß die Stämme durch lange Ueberimpfung und Anpassung an das künstliche Nährsubstrat schließlich zu einem Dauerstatus gelangt sind, bei dem neue Einflüsse keine Veränderung mehr bewirken.

Dann ist es aber auch denkbar, daß das gesamte Geschlecht der Pseudodiphtheriebazillen nur eine Entwicklungsstufe, eine Modifikation des Diphtheriebazillus darstellt. Es muß hier wieder auf die Versuche von Schmitz hingewiesen werden, welche ergaben, daß durch Meerschweinchenpassage erhaltene Varianten der Diphtheriebazillen gewisse neuerworbene Eigenschaften, die Charakteristika der Pseudodiphtheriebazillen sind, bei Züchtung durch viele Generationen beibehielten. Es ist dem Autor allerdings bei einer großen Zahl von Versuchen in ganz wenigen Fällen gelungen, Diphtheriebazillen in allen fünf Punkten umzuwandeln. Ein Anhaltspunkt dafür, daß diese weitgehende Modifikation eine Dauermodifikation gewesen ist, läßt sich aus der Arbeit nicht entnehmen. Auch diese Varianten zeigten noch sämtlich geringe serologische Verwandtschaft mit den Ausgangsstämmen; es ist also nicht erwiesen, daß es hier zur Bildung einer neuen Art gekommen ist.

Mag nun auch ein biogenetischer Zusammenhang zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen bestehen — dafür ist bisher ebenfalls kein strikter Beweis erbracht — so würde sich daraus noch keine Stütze für die Identitätslehre ergeben; es würde damit nur gezeigt sein, daß neue Arten aus anderen entstehen können. Die Identitätslehre kann nur vertreten werden, und daran ist unbedingt festzuhalten, wenn Pseudodiphtheriebazillen sowohl in der Virulenz als auch morphologisch wieder zum Typus der Diphtheriebazillen umgewandelt werden können.

Ich stellte schließlich noch einige Versuche zur Entscheidung der Frage an, ob es möglich ist, Pseudodiphtheriebazillen morphologisch so umzuwandeln, daß sie echten Diphtheriebazillen gleichen, oder ob sie sich in ihrer Morphologie so konstant verhalten, daß eine Beeinflussung in dieser Beziehung nicht möglich ist. Zu diesen Versuchen wurde drei Versuchspersonen eine Aufschwemmung der Stämme A 1 bis R 12 in Eiweißgelatine abends nach der letzten Nahrungsaufnahme mit einem

Pinsel auf die Tonsillen gestrichen. Es war nun die Aufgabe festzustellen, ob irgendeiner der so übertragenen Stämme nach Verlauf einer gewissen Zeit sich morphologisch ändern würde. Zuvor wurde natürlich zur Kontrolle festgestellt, daß die betreffenden Vp. (Versuchspersonen) keine Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebazillen beherbergten. Die Pinselung wurde vier Tage lang abends wiederholt, dann wurde die Behandlung eingestellt. Nach Verlauf von weiteren vier Tagen ergab die Kultur der Tonsillenabstriche, welche auf Loeffler-Agarplatten übertragen wurden, bei Vp. 2 und Vp. 3: sehr zahlreiche Kolonien von Pseudodiphtheriebazillen, die nicht einzeln standen, sondern mit Kolonien anderer Bakterienarten konfluierend verwachsen waren. Durch nochmalige Uebertragung wurden die Pseudodiphtheriebazillen in Reinkultur erhalten. Der Tonsillenabstrich der Vp. 1 ergab in der Kultur nur sehr vereinzelt Pseudodiphtheriebazillen neben zahlreichen anderen Bakterienkolonien. Morphologisch zeigten sich die Bazillen sämtlicher einzelner Kolonien, sowohl von der Originalkultur, als auch von der Uebertragung zur Reinkultur, absolut unverändert gegenüber den Ausgangsstämmen. Nach 14 Tagen seit Beginn der Versuche wurden wieder Rachenabstriche mit demselben Ergebnis bei Vp. 2 und Vp. 3 untersucht. Bei Vp. 1 waren keine Pseudodiphtheriebazillen mehr nachweisbar. Vp. 1 wurde darauf wiederum 4 Tage lang mit einer Aufschwemmung der Stämme A 1 bis R 12 behandelt; nach einer Woche waren aber die Bazillen ebenso wie bei einem nochmals wiederholten Versuche bereits nicht mehr nachweisbar. Zu Ende der dritten Woche seit Beginn der Behandlung litt Vp. 2 an einer fieberhaften Angina (Gesamtdauer fünf Tage). Von den Tonsillen wurden Streptokokken fast in Reinkultur gezüchtet, die sich im Tierversuch als hochvirulent erwiesen. Daneben fanden sich immer noch relativ zahlreiche Pseudodiphtheriebazillen. Rachenabstriche wurden täglich während der Erkrankung und eine Woche lang in der Rekonvaleszenz untersucht. Die Pseudodiphtheriebazillen (natürlich in Reinkultur ohne Streptokokken) wurden mehrmals im Tierversuch geprüft und immer vollkommen avirulent gefunden. Eine morphologische Abweichung von den Ausgangsstämmen konnte während der ganzen Dauer dieser Versuchsperiode nicht festgestellt werden. In der sechsten Woche seit Beginn der Versuche waren bereits nur noch relativ wenig Pseudodiphtheriebazillen bei Vp. 2 und Vp. 3 nachzuweisen; Vp. 3 hatte die Bazillen in der achten Woche verloren, während sie bei Vp. 2 noch nach 12 Wochen gefunden wurden. Die Kultur des letzten Rachenabstriches dieser Vp. ergab auch nach 12 Wochen keine morphologische Aenderung der Pseudodiphtheriebazillen.

Auch in ihren sonstigen Eigenschaften, welche zur Kontrolle bei allen Versuchen mitgeprüft wurden, konnte keine Abweichung gefunden werden. Sämtliche Kulturen zeigten Arteinheit in ihren übrigen Merkmalen: sie waren avirulent, wuchsen nicht anaërob, bildeten nur sehr selten Polkörper, die sich nur bei einzelnen Individuen hin und wieder zeigten, und ließen die Farbe des Thielschen Nährbodens unverändert.

Meine Versuche zeigen somit, daß es nicht möglich ist, echte Pseudodiphtheriebazillen virulent zu machen oder morphologisch zu ändern. Man wird also dem unitarischen Standpunkte von Schanz seine Berechtigung absprechen müssen.

Aus dem Ueberblick über die Literatur ergibt sich, daß noch eine

recht erhebliche Verwirrung in der Nomenklatur der einzelnen Gruppen des genus Corynebacterium herrscht.

Eine wesentliche Vereinfachung, die den Ansprüchen der Praxis gerecht wird, die auch die wissenschaftlichen Zusammenhänge, soweit sie bis jetzt geklärt sind, berücksichtigt, kann vielleicht in der Weise erreicht werden, daß man neben den echten Diphtheriebazillen die ihnen morphologisch und kulturell nahestehenden Formen als Paradiphtheriebazillen bezeichnet, um so ihre Verwandtschaft mit den echten Diphtheriebazillen hervorzuheben. Bekanntlich ist die Bezeichnung „Paradiphtheriebazillus" durch Lubinski eingeführt worden, der auf Wunden einen Pseudodiphtheriebazillus fand, den er mit diesem Namen bezeichnet. Ganz neuerdings schlägt auch Radice vor, die avirulenten Diphtheriebazillen als Paradiphtheriebazillen zu bezeichnen. Der Name „Pseudodiphtheriebazillus" wäre zweckmäßig ausschließlich für den echten Pseudodiphtheriebazillus der Gruppe B nach Neisser zu reservieren, und den Namen „Xerosebazillus" könnte man fallen lassen, der doch nur den Standort bezeichnen würde.

Die Identitätsfrage ist bereits so vielfach diskutiert worden, daß es recht schwierig ist, einen neuen Gesichtspunkt von prinzipieller Bedeutung an das alte Problem des Verwandtschaftsverhältnisses der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen heranzutragen, wie ihn etwa Schanz mit seiner Theorie der Identität beider Bazillenklassen vertritt und der daraus gezogenen Folgerung, der Diphtheriebazillus sei überhaupt apathogen für die Diphtherie, sie sei durch ein „Y" Pettenkofers, durch ein invisibles Virus oder sonst irgendwie verursacht. Die Ergebnisse der Variabilitätsforschung zeigen, daß die Variationsfähigkeit der Diphtheriebazillen weite Grenzen hat ohne eine beweiskräftige Stütze für die Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen zu geben. Auch meine Beiträge zu dieser Frage haben gezeigt, daß der Pseudodiphtheriebazillus, wenigstens in der Form, in der er sich uns bei Untersuchungen am häufigsten darstellt, als recht konstante Art sui generis anzusehen ist. Die Grundfragen des Diphtherie-Pseudodiphtherieproblems sind, namentlich im Hinblick auf die Bedürfnisse der Praxis, als genügend geklärt anzusehen, daran werden die Beanstandungen von Schanz nichts ändern können. Schon eingangs wurde darauf hingewiesen, daß sich die neuere Forschung demgemäß folgerichtig mit speziellen Fragen innerhalb der einzelnen Bakteriengruppen der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen beschäftigt.

Zusammenfassung.

1) Die bisherigen Mitteilungen der Literatur, daß es gelungen sei, Pseudodiphtheriebazillen virulent zu machen, müssen als nicht zureichend begründet angesehen werden, da nicht sicher festzustellen ist, ob zu diesen Versuchen wirklich echte Diphtheroide (Gruppe B nach Neißer) benutzt worden sind. — 2) Die Variabilitätsforschung hat keine Ergebnisse in dem Sinne gezeitigt, daß die Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen als bewiesen angesehen werden kann, obwohl sie die Verwandtschaft gewisser namentlich bei Rekonvaleszenten vorkommender atypischer Formen mit den Diphtheriebazillen sehr wahrscheinlich gemacht hat. — 3) Eigene Untersuchungen zeigen,

daß die häufigste Art der Diphtheroiden, plumpe, bei der üblichen Kulturmethode fast gar nicht Neißer-positive Kurzstäbchen, welche avirulent sind, nicht anaërob wachsen und die Farbe des Thielschen Nährbodens unverändert lassen, weder serologisch (Agglutinationsversuche) mit den Diphtheriebazillen verwandt sind, noch sich virulent machen oder morphologisch beeinflussen lassen. — 4) Demgemäß ist die von Schanz neuerdings wieder vertretene Lehre von der Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen schlechthin abzulehnen. — 5) Der prinzipielle Fehler in der Schanzschen Auffassung liegt darin, daß er verwandschaftliche Verhältnisse zu den Diphtheriebazillen, die vielleicht bei einem geringen Teile des Formenkreises der Diphtheroiden bestehen, für die Gesamtheit der Pseudodiphtheriebazillen gelten läßt. — 6) Die atypischen diphtherieähnlichen Formen der Pseudodiphtheriebazillen sind relativ selten. Verfehlt ist daher auch die Ansicht von Schanz, daß durch Verwechslung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen sich erhebliche Fehler bei der Schnelldiagnose ergeben. Dieser Fehler ist vielmehr als ganz gering zu veranschlagen; der Wert der Statistiken, die auf der Schnelldiagnose fußen, wird daher kaum dadurch berührt.

Literatur.

1) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. (7. Tag. d. fr. Ver. f. Mikrobiol. in Berlin 1913. — 2) Bernhardt u. Paneth. Ebenda. — 3) Bitter u. Gundel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. — 4) Dieselb., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 97. H. 2/3. — 5) Hammerschmidt, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. — 6) Hetsch u. Schloßberger, Münch. med. Wochenschr. 1920. Nr. 46. — 7) Hewlett u. Knight, Trans. of. Jenner Inst. 1897. — 8) Kisskalt u. Berend, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. — 9) Klinger u. Schoch, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. — 10) Lubowski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. — 11) Minett, Journ. of comp. pathol. therap. Vol. 35. Nr. 4. 1922. — 12) Pesch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. — 13) Ders., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 93. (10. Tag. d. Dtsch. Verein. f. Mikrobiol. in Göttingen). — 14) V. Przewoski, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. — 15) Radice, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. — 16) van Riemsdijk, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. — 17) Roux et Yersin, Ann. Past. Bd. 4. 1899. — 18) Salter, Trans. of Jenner Inst. Vol. 2. 1899. — 19) Schanz Dtsch. med. Wochenschr. 1894. Nr. 49. — 20) Ders., Berl. klin. Wochenschr. 1893. Nr. 12. — 21) Ders., Ibid. Nr. 3. — 22) Ders., Ibid. 1897. Nr. 50. — 23) Ders., Münch. med. Wochenschr. 1898. — 24) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32. 1899. — 25) Ders., Münch. med. Wochenschr. 1902. Nr. 2. — 26) Ders., Reichsmedizinalanzeiger. Jhrg. 54. 1919. Nr. 24. — 27) Ders., Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 24. — 28) Scheller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1916. — 29) Schmitz, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. — 30) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. — 31) Seligmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. — 32) Trumpp, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 1896. — 33) Walter, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912.

Nachdruck verboten.

Zur Wirkung der Kastration auf Infektionsfähigkeit und Antikörperbildung beim Tier.

[Aus der Nervenklinik (Dir.: Geh. Rat Prof. Dr. R. Sommer) und dem Hygienischen Institut (Dir.: Prof. Dr. E. Gotschlich) der Universität Gießen.]

Von Prof. Dr. **Heinrich Fischer** und Dr. **H. Kliewe.**

In der Literatur liegen schon von verschiedenen Autoren Berichte über Tierversuche zu der Frage vor, ob innersekretorische Funktionen in den Schutzmechanismen des Organismus eine Rolle spielen, welche bei Intoxikation und Infektion in Kraft treten. Zu der 1. Frage, nach den Beziehungen der inneren Sekretion zur Intoxikation, finden wir zum Teil schon gesicherte Resultate. Wir wollen hier auf diese Literatur nicht im einzelnen eingehen und nur kurz daran erinnern, daß z. B. thyreoidektomierte Tiere gegen anorganische Gifte eine herabgesetzte und umgekehrt schilddrüsengefütterte gegen Azetonitril und Morphin eine erhöhte Empfindlichkeit zeigen (K. Hunt u. a. A.). Der eine von uns (Fischer) konnte in früheren Versuchen zeigen, daß sich auch bei nebennierenlosen Tieren die Giftwirkung des Amylnitrits ändert. In diesen Resultaten sehen wir gewisse Hinweise dafür, daß innersekretorische Organe für die physiologischen Einrichtungen des Organismus von Bedeutung sind, welche bei Vergiftungen als Schutzvorrichtung in Funktion treten. Auch von einer gewissen Bedeutung der inneren Sekretion für die Genese der Idiosynkrasien wissen wir schon einiges.

So steht z. B. die Jodwirkung bekanntlich in engen Beziehungen zur Schilddrüsenfunktion, ja sie scheint überhaupt in erster Linie an das Vorhandensein der Schilddrüse im Organismus gebunden zu sein. Wir können die Jodwirkung durch gleichzeitige Gaben von kleinen Schilddrüsendosen steigern und so den therapeutischen Mißerfolg bei jodfesten alten Luetikern überwinden (Wagner von Jauregg). Andererseits ist die Idiosynkrasie gegen Jod nicht nur von Basedow-Kranken, sondern auch von konstitutionell latenten Schilddrüsenschwächlingen bekannt.

Die experimentelle Untersuchung der 2. Frage, ob innersekretorische Faktoren auch für die Infektionsfähigkeit und Antikörperbildung des Organismus eine Rolle spielen, gestaltet sich schwieriger. Das infektiöse Agens läßt sich im Versuch nicht so exakt dosieren wie ein gelöstes Gift und nicht wie eine wägbare Giftdosis in ein durch Zahlen bestimmbares Verhältnis zum Gewicht des Tierkörpers bringen. Dazu kommen als unwägbare und nur in weiteren Grenzen bestimmbare Versuchsfaktoren noch alle die hinzu, welche von der Pathogenität eines Stammes und anderen Bedingungen abhängig sind, welche an die besondere, vorläufig noch nicht im Einzelnen exakt faßbare Biologie des Bakterienstammes gebunden sind. Auch sind unsere Kenntnisse über den Vorgang der Immunkörperbildung bisher noch mangelhaft.

Doch verfügen wir auf diesem Gebiete, wie leicht verständlich, über mehr klinische Erfahrungen als dies bei der Intoxikation der Fall

ist. Klinische Beobachtungen zeigen uns nun zweifellos, daß nicht selten innersekretorische Organe in den Krankheitsvorgang einbezogen sind, ohne daß wir hier allerdings zunächst weitere Schlüsse auf die Stellung dieser innersekretorischen Organe in der Pathogenese des klinischen Gesamtbildes machen könnten. Wir wissen z. B. daß manche Infektionen eine gewisse Affinität zu bestimmten Drüsen zeigen. So erkrankt bei der kongenitalen Lues neben anderen innersekretorischen Drüsen besonders die Hypophyse. Bei der Diphtherie finden wir nicht selten schwere Affektionen der Nebennieren. Andere Infektionen führen zur Erkrankung der Schilddrüse u. a. m. Eine weitere klinische Erfahrung ist, daß der sogenannte Status thymicolymphaticus für Infektionskrankheiten besonders anfällig ist. Demgegenüber machte der eine von uns (Fischer) an Kastraten und Eunuchoiden, die seit Jahren in seiner Beobachtung standen, die Wahrnehmung, daß letztere zum mindesten gegenüber der Grippe eine erhöhte Widerstandskraft zeigen. Fischer hat auch schon in früheren Arbeiten wiederholt darauf hingewiesen, daß keiner der ihm bekannten Kastraten und Eunuchoiden während der Grippeepidemien erkrankte. Hierzu kam noch als besonders bemerkenswert, daß ein Fall von „traumatischem Späteunuchodismus", dessen Heilung unter der eingeleiteten Therapie einsetzte, bald nach dem Auftreten der sexuellen Funktionsäußerungen an einer schweren Grippe erkrankte (vgl. zur genaueren Orientierung Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych. Bd. 94. 1924). Diese klinischen Beobachtungen wurden für uns der Anstoß zu den folgenden tierexperimentellen Untersuchungen.

Besprechen wir zunächst kurz die in der Literatur bisher vorliegenden Tierversuche, welche sich mit unserer Fragestellung beschäftigen.

Torelli fand in seinen Versuchen mit jungen Hunden, daß die Agglutininsowie Opsoninbildung durch Kastration herabgesetzt, eine Steigerung durch Injektion von Hodenextrakten erzielt wurde. Furja kommt zu dem Ergebnis, daß das phagozytäre Vermögen von Leukozyten bei ovariektomierten Kaninchen in geringem Grade herabgesetzt ist. Bricker sah kastrierte Kaninchen wesentlich später an Tuberkulose eingehen als die nichtkastrierten und nimmt danach an, daß die Kastration eine Art Immunität verleihe. Nach von Falkenhausen bewirkt die Kastration bei Kaninchen beiderlei Geschlechts eine Herabsetzung der Funktion des Knochenmarkes, des Hämoglobinwertes und der myeloischen Elemente des weißen Blutbildes bei vermehrtem Auftreten unreifer Formen. Der Ersatz von Blutverlusten soll bei kastrierten und splenektomierten Tieren eine etwa dreimal so lange Zeit erfordern als beim Kontrolltier. Von Breuer und von Seiler (zit. v. Falkenhausen) sahen nach Ovariektomie bei Tieren Rückgang von Erythrozyten und Hämoglobin. Binzani dagegen beobachtete das gegenteilige Verhalten. Asher fand, daß die Phagozytose bei Kaninchen nach Exstirpation der Schilddrüse oder der Ovarien herabgesetzt war. Dabei war der Unterschied nach der Kastration gegenüber der Norm viel geringer als nach der Schilddrüsenexstirpation.

Während die vorher genannten Autoren Unterschiede im Verhalten der Tiere, denen Hoden bzw. Ovarien entfernt waren gegenüber den normalen Tieren beobachteten, und zwar meist im Sinne einer Herabsetzung der Immunkörperbildung, führten die Untersuchungen anderer Autoren zu negativen Resultaten. Lüthje sah die Befunde von v. Breuer und v. Seiler nicht bestätigt, er fand keinerlei Einfluß der Ovariektomie auf die Menge der Erythrozyten und des Hämoglobingehaltes, und Glusman und Weyrauch kommen auf Grund ihrer zahlreichen Versuche an Hunden bzw. Kaninchen zu dem Ergebnis, daß die Kastration die Fähigkeit Antikörper zu bilden nicht beeinflusse.

So sehen wir schon aus diesen Literaturangaben, daß sich die Resultate der bisherigen Untersucher sehr widersprechen. Es kann hier

nicht unsere Aufgabe sein, den Ursachen für diese Differenzen im einzelnen nachzugehen. Ganz allgemein wollen wir nur bemerken, daß natürlich nur derartige Versuche miteinander verglichen werden können, die auch gleiche Versuchsbedingungen zeigen. Zu diesen gehört selbstverständlich die Verwendung der gleichen Bakterienart und eines morphologisch und biologisch sich gleichverhaltenden Stammes. Weiter ist selbstverständlich, daß nur die Versuche an der gleichen Tierart verglichen werden können, wobei die Tiere zudem gleichen Geschlechts und gleichen Alters sein müssen, aus derselben Zucht stammen und unter denselben Verhältnissen aufgewachsen sein sollen. In unseren Versuchen ist diesen Forderungen Rechnung getragen. Als Versuchstiere verwandten wir weiße Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen. Als Infektionsstoff verwandten wir einmal Bakterien von hoher Pathogenität, um eventuell Differenzen im Verlauf sicher tödlich wirkender Infektionen beim kastrierten und normalen Tiere zu sehen. Noch wichtiger schienen uns weiter solche Versuche, bei denen wir keine tödliche Wirkung, sondern eine länger dauernde Erkrankung erzielen wollten. Gerade bei solchen Infektionen mußten sich unseres Erachtens am ehesten leichtere Differenzen in der Reaktion des Kastraten und des normalen Tieres feststellen lassen. Außerdem war hier die Möglichkeit gegeben, die immunobiologischen Vorgänge besser zu studieren. Im Anschluß an unsere oben erwähnten klinischen Beobachtungen interessierte uns in erster Linie die Frage, ob die Kastration merkliche Differenzen in der Infektionsbereitschaft des tierischen Organismus schafft.

Die ersten Versuche machten wir an kastrierten weißen Ratten. Es handelte sich um zwölf Monate alte Tiere, die im geschlechtsreifen Alter kastriert waren, die Kastration lag 6—8 Monate zurück. Es sei hier noch besonders hervorgehoben, daß die Versuchsanordnung natürlich falsch ist, wenn das Experiment unmittelbar oder nur kurze Zeit nach der Kastration vorgenommen wird. Wir wissen sowohl aus der morphogenetischen Wirkung der Kastration, als auch aus den auf dem Wege der Korrelation sich sekundär in anderen innersekretorischen Organen bildenden Veränderungen, daß zur vollen Auswirkung der Kastration im Gesamtorganismus mehrere Monate und bei größeren tierischen Organismus selbst Jahre erforderlich sind. Diese Tatsache ist bei den bisherigen Versuchen, wie aus der Literatur ersichtlich, nicht immer genügend beachtet worden. Als Kontrolltier diente für jeden Versuch ein unkastriertes Tier desselben Wurfes und desselben Geschlechts, das unter denselben Bedingungen aufgewachsen war.

1) Versuch mit Milzbrandbazillen.

10 weißen Ratten, 5 kastrierten (Nr. 21, 25, 27, 29, 31), und 5 normalen (Nr. 22, 26, 28, 30, 32) werden abgestufte Mengen Milzbrandbazillenreinkultur subkutan injiziert und zwar den Ratten 21, 22 je 1 ccm, Nr. 25, 26 je 0,2 ccm und Nr. 27, 28 je 0,1 ccm einer 24stünd. Bouillonreinkultur. Den Tieren Nr. 29, 30 je $^1/_8$ Oese und Nr. 31, 32 je $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur.

a) Ratte 21 (kastriert) ging nach 3 Tagen ein, das nicht kastrierte (22) nach $3^1/_2$ Tagen.

b) Ratte 25 (kastriert) ging nach 4 Tagen, das nicht kastrierte Tier (26) 2 Std. früher ein als das kastrierte.

c) Ratte 27 (kastriert) ging nach 5 Tagen, das nicht kastrierte Tier (28) nach 4 Tagen ein.

d) Ratte 29 (kastriert) ging nach $6^1/_2$ Tagen, das nicht kastrierte Tier (30) nach $7^1/_2$ Tagen ein.

e) Ratte 31 (kastriert) ging nach 8 Tagen, das nicht kastrierte Tier 32 nach $8^1/_4$ Tagen ein.

Die Sektion ergab bei sämtlichen Tieren ein gleiches Ergebnis: Milz stark vergrößert, von dunkelroter Farbe, brüchig. Bauchorgane gering gerötet. Nieren dunkelrot, mit Blut überfüllt. An den innersekretorischen Organen werden makroskopisch keine Veränderungen festgestellt. An der Impfstelle und in ihrer Umgebung serös-sulziges und hämorrhagisches Oedem. Aus der Milz werden Milzbrandbazillen gezüchtet.

Diese Versuchsreihe zeigt uns, daß von 5 Parallelversuchen in einem Falle (Versuch Nr. 1d) das kastrierte Tier 24 Std. früher einging, in 2 anderen Fällen (Versuch 1a und e) gingen die kastrierten Tiere ebenfalls früher ein als die normalen, doch ist den Unterschieden von $^1/_4$ bzw. $^1/_2$ Tag keine besondere Bedeutung zuzumessen. In einem Falle Versuch Nr. 1c ging das normale Tier 24 Std. früher ein als das kastrierte und in einem andern Falle (Versuch Nr. 1b) 2 Std.

2) Versuch mit Pneumokokken.

Den Ratten 15, 16 wurde je 1 Oese Pneumokokkenreinkultur, aufgeschwemmt in 1 ccm Bouillon, intraperitoneal eingespritzt. Das kastrierte Tier bleibt an den nächsten 3 Tagen gesund, während das nicht kastrierte 2 Tage lang krank war (Haare gesträubt, Freßunlust, schläfrig). Am 4. Tag nach der 1. erneute Injektion der gleichen Menge und Bakterienart. 24 Std. später geht das nicht kastrierte Tier ein, nach weiteren 12 Std. auch das kastrierte.

Sektionsbefund bei beiden Tieren gleich: Vergrößerte Milz, geringes Exsudat in der Bauchhöhle, sonst kein Befund. Aus der Milz werden Pneumokokken gezüchtet.

3) Versuche mit Pneumobazillen (Friedländer).

a) Den Ratten 17 und 18 wurde je 2 ccm einer 48stünd. Pneumobazillenbouillonkultur subkutan injiziert. Das kastrierte Tier geht am 5. Tage, das nicht kastrierte am 7. Tage p. i. ein.

In einem 2. Versuch (b) mit den Tieren 33, 34 (subkutane Injektion von 1 ccm einer 24stünd. Reinkultur), ging das kastrierte Tier nach $3^1/_2$ Tagen ein. Das nicht kastrierte Tier blieb gesund.

Sektionsbefund der eingegangenen Tiere: Milz stark vergrößert, Bauchorgane hämorrhagisch injiziert. In den Lungen und Nieren kleine Infiltrationsherde. Aus der Milz und Lunge ließen sich Pneumobazillen züchten.

4) Versuchsreihe mit B. coli (aus menschl. Urin gezüchteter Stamm).

a) Den Ratten 13 und 14 wurden je 2 ccm große Mengen von B. coli enthaltenden Urin subkutan unter die Bauchhaut eingespritzt. Während das nicht kastrierte Tier nur leichte Krankheitserscheinungen zeigte, ging das kastrierte Tier nach 32 Std. ein.

b) Der Versuch an 2 anderen Ratten (19, 20) wiederholt (Injektion erfolgte intraperitoneal), ergab, daß das nicht kastrierte Tier früher (nach 11 Std.) einging als das kastrierte (nach 17 Std.).

Sektionsbefund der eingegangenen Tiere: Injektionsstelle in weiter Umgebung hämorrhagisch infiltriert, Bauchorgane peritonitisch verändert, Milz stark vergrößert, dunkelrot; kulturell wurde B. coli nachgewiesen. Herzgefäße stark injiziert. Das normale Tier ist nach 3 Monaten noch völlig gesund.

5) Versuch mit Mäusetyphusbazillen:

Ratte 23, 24 erhielten je 2 ccm einer 24stünd. Mäusetyphusbouillonkultur intraperitoneal injiziert. Beide Tiere erkrankten. Das kastrierte Tier ging nach 4 Tagen ein, während das nicht kastrierte Tier sich erholte.

Sektionsbefund: Milz dunkelrot, etwas vergrößert, Därme gering gerötet, sonst kein Befund.

Fassen wir kurz das Resultat der ersten Versuche (Nr. 1—5) zusammen, so sehen wir, daß die nicht kastrierten Ratten in 7 Versuchen (1a, 1d, 1e, 3a, 3b, 4a und 5) sich der Infektion gegenüber widerstandsfähiger verhielten als die kastrierten, in 4 Versuchen (1b, 1c, 2, 4b) dagegen die kastrierten. In 5 Versuchen tritt der Unterschied deutlich hervor, indem in den Versuchen 3b, 4a, 5 die normalen Tiere überhaupt nicht eingingen. Im Versuch 3a überlebte das normale 2 Tage und im Versuch 1d 1 Tag das kastrierte Tier. Die Zwischenräume bei den anderen beiden Versuchen 1a mit $^1/_2$ Tag und 1e mit $^1/_4$ Tag sind zu

gering, als daß sie verwertet werden könnten. Von den normalen Tieren ging nur in einem Versuch (1c) das Kontrolltier früher (1 Tag) ein als das kastrierte; die Zwischenräume bei den anderen Versuchen (1b mit 2 Std., 2 mit 12 Std. und 4b mit 6 Std.) haben keine beweisende Kraft, da diese geringen Differenzen individuell bedingt sein können. Wir wissen, daß kein Tier dem andern vollkommen gleich ist, selbst wenn es vom selben Wurf stammt und unter denselben Bedingungen aufgewachsen ist. Nach diesen Versuchen besteht also in der Mehrzahl der Fälle eine verminderte Widerstandskraft bei den kastrierten Tieren. Wenn andere Autoren dies nicht beobachten konnten, so mag das darin begründet sein, daß die Versuche schon bald nach der Entfernung der innersekretorischen Drüsen angestellt wurden. Wir erwähnten bereits oben, daß zur vollen Auswirkung der Kastration mehrere Monate ja sogar Jahre notwendig sein können. Wenn wir in einigen Versuchen (z. B. Nr. 1) widersprechende Befunde erhoben, indem einmal das kastrierte Tier 1 Tag früher, ein anderes Mal ein Tag später einging als das Kontrolltier, so ist diesem geringen Zeitraum keine große Bedeutung beizumessen, zumal in anderen Versuchen ganz einwandfreie Ergebnisse erzielt wurden. Wir können demnach sagen, daß die kastrierten Tiere im allgemeinen der Infektion früher erliegen als die normalen Tiere. Scott sah auch bei Ratten mit doppelseitiger Adrenalektomie eine Herabsetzung der Resistenz nach intraperitonealer Injektion von abgetöteten Streptokokken und Staphylokokken.

In den vorhergehenden Versuchen wurde die Frage geprüft, wie sich die Tiere bei akut einsetzenden tödlich verlaufenden Infektionen verhielten. Es folgen nun Versuche mit Bakterienarten, die für Ratten, wenn auch nicht apathogen, so doch nur dann tödlich sind, wenn sie in großen Mengen auf einmal oder nacheinander einverleibt werden. Wir verwandten Mikroorganismen, die uns gestatteten, besser die immunobiologischen Vorgänge im Tierkörper zu studieren: also Paratyphus B-, Typhusbazillen, Choleravibrionen und Tetragenuskokken.

6) Versuch mit Paratyphus B.

a) 2 Ratten (Nr. 1 und 2) wurde je 1 ccm Paratyphus B-Aufschwemmung (1 Oese in 1 ccm physiol. NaCl-Lösung) subkutan injiziert. In Abständen von 4 Tagen erfolgten Reinjektionen mit steigernden Dosen (2, 3, 4 Oesen in 1 ccm NaCl-Lösung) subkutan und intraperitoneal. Die Tiere waren zwar nach jeder Injektion 2—3 Tage traurig, schläfrig, fraßen nicht, erholten sich aber wieder. Ca. 36 Std. nach der letzten Injektion (10 Oesen Para B-Kultur in 2 ccm NaCl intraperitoneal injiziert), ging das kastrierte Tier ein. Es wurde sogleich für serologische Zwecke entblutet. Das nicht kastrierte Tier machte seit der letzten Injektion einen weniger schwer kranken Eindruck als das kastrierte, es wurden ca. 65 Std. p. i. getötet. Sektionsbefund beider Tiere: Därme stark gerötet, Milz geschwollen, dunkelrot, rechte Nebenniere erscheint beim kastrierten Tier etwas vergrößert. Sonst kein Befund. Aus Leber, Milz, Blut werden bei beiden Tieren beim nicht kastrierten Tier auch aus dem Testikel Para B-Bazillen gezüchtet.

Agglutinationsversuche:

1.	Paratyphus-B.-Serum	(Labor.)	+	Par.-B.	(Stamm	normale Ratte)	1 : 6400 ±
2.	„	„ („)	+	„	(„	Labor.)	1 : 12800 ±
3.	Serum von	kastrierter Ratte	+	„	(„	„)	1 : 12800 ±
4.	„ „	normaler „	+	„	(„	„)	1 : 3200
5.	„ „	kastrierter „	+	„	(„	kastrierte Ratte)	1 : 12800
6.	„ „	normaler „	+	„	(„	„ „)	1 : 6400

Zunächst ersehen wir aus diesem Versuch, daß das kastrierte Tier der Infektion erlag. Das normale Tier wurde um vergleichende Agglutinationswerte zu erhalten getötet. Das Serum der kastrierten Ratte

agglutinierte den Para B.-Stamm Labor. und den aus dem eigenen Körper gezüchteten Stamm bis 1:12800, das Serum der nicht kastrierten Ratte zeigte eine Agglutinationshöhe von 1:3200 mit dem Stamm Labor. und 1:6400 mit dem aus der kastrierten Ratte gezüchteten Stamm. Der Unterschied zwischen beiden Tieren ist zu geringfügig um daraus Schlüsse zu ziehen.

b) Die Wiederholung dieses Versuches mit einem andern Stamm und 2 andern Ratten (37, 38), denen 4mal in Abständen von 5 Tagen je 1 Oese (aufgeschwemmt in 1 ccm NaCl-Lösung) injiziert wurde, zeigten im Agglutinationsversuch keine Differenzen. Beide agglutinierten den homologen Stamm bis zur Verd. 1:3200. Auch blieben beide Tiere lebendig.

7) Versuch mit Typhus B.

Den Ratten 11 und 12 wurde je 1 ccm Typhusbazillenbouillonkultur, bei 56° C $^1/_2$ Std. abgetötet, subkutan injiziert. In Abständen von 4 Tagen erneute Injektion von je 1 und 2 ccm abgetöteter Bazillenkultur. 6 Tage nach der letzten Injektion wurde den Tieren aus der a. femoralis Blut entnommen für Agglutinationsversuche. Das kastrierte Tier agglutinierte den Typhusstamm feinflockig bis zur Verd. 1:800, das nicht kastrierte Tier bis 1:1600. Der hier im entgegengestzten Sinne zu Versuch 6a auftretende Unterschied ist wiederum zu geringfügig um verwertet werden zu können. In der nächsten Versuchsreihe sehen wir überhaupt keine Unterschiede.

8) Versuchsreihe mit Choleravibrionen.

a) 2 Ratten (9, 10) wurde in Abständen von 4 Tagen 2mal je 1 ccm und 2mal je 2 ccm einer 24stünd. Cholerabouillonreinkultur bei 56° $^1/_2$ Std. abgetötet, subkutan injiziert. Die Tiere zeigten keine Krankheitserscheinungen; 7 Tage nach der letzten Injektion wurden sie getötet. Das Serum beider Tiere agglutinierte Choleravibrionen gleich hoch bis 1:400. Die Agglutination bei dem nicht kastrierten Tier war etwas grobflockiger. Auch im Bakterizidieversuch waren keine Unterschiede zwischen beiden Seris festzustellen.

b) Derselbe Versuch mit dem gleichen Cholerastamm in gleicher Versuchsanordnung mit 2 Meerschweinchen zeigte allerdings, daß das Serum vom kastrierten Meerschweinchen (im vorgeschlechtlichen Alter kastriert, 7 Monate p. K. geimpft) Choleravibrionen bis zur Verd. 1:800, das nicht kastriert bis 1:200 agglutinierte. Der opsonische Index war bei beiden Tieren nur gering differierend, 1,8 beim kastrierten, 1,6 beim nicht kastrierten Tier.

9) Versuch mit Tetragenuskokken.

In Abständen von 9 Tagen werden den beiden Ratten 7 und 8 Tetragenuskokken (hochvirulenter Stamm, 3mal je 1 Oese in 1 ccm physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt, subkutan injiziert. Nach der 3. Injektion wird das kastrierte Tier schwer krank. Im moribunden Zustand wird es getötet. Sektionsbefund: Milz deutlich vergrößert, außer der stark vergrößerten Milz makroskopisch kein veränderter Befund. Aus der Milz werden Tetragenuskokken gezüchtet. Das nicht kastrierte Tier blieb gesund. Zu vergleichenden Untersuchungen wurden dem Tiere aus der A. femoralis Blut entnommen. Agglutinationsversuch: Beide Sera agglutinieren den homologen Stamm bis zur Verdünnung 1:6400 (auch die Kochsalzkontrolle zeigte geringe Agglutination). Im Phagozytoseversuch waren ebenfalls keine Unterschiede feststellbar, dagegen bestand eine deutliche Differenz in der Widerstandsfähigkeit gegenüber der Infektion, indem das kastrierte Tier einging und das normale lebendig blieb, ähnlich wie in den Versuchen 3b, 4a, 5 und 6.

Fassen wir das Ergebnis dieser 2. Gruppe von Untersuchungen kurz zusammen, so können wir sagen, daß nur in einem Versuch 8b ein deutlicher Unterschied in der Antikörperbildung bestand, in den andern waren nur geringe oder keine Differenzen zu konstatieren. Diese Beobachtungen stimmen mit denen anderer Autoren überein (Weyrauch, Glusmann).

Zu den gleichen Beobachtungen kamen wir, wenn statt der bakteriellen histogene Antigene für die Immunkörperbildung herangezogen wurden.

10) Versuch mit Hammelblutkörperchen.

a) In Abständen von 6—7 Tagen wurde 2 Tieren (3 und 4) je 2 bzw. 3 ccm gewaschene 5proz. Hammelblutkörperchen subkutan und intraperitoneal eingespritzt. Nach der 7. Injektion wurde den Tieren aus der a. femoralis Blut entnommen zum Hämolyseversuch: 0,25 ccm Meerschweinchenkomplement, steigernde Rattenambozeptordosen, 0,25 ccm 5proz. Hammelblutkörperchen. Nach 1 Std. Brutschrankaufenthalt und weitere Belassung bei Zimmertemperatur wurde nach 3 und 24 Std. das Ergebnis abgelesen. Beim kastrierten Tier trat bis zur Ambozeptorverdünnung 1:600 noch schwache Hämolyse auf, beim nichtkastrierten bis zur Verdünnung 1:400.

b) Derselbe Versuch mit 2 Kaninchen (kastriert und normal) angestellt ergab bei beiden Tieren eine gleiche Titerhöhe von 1:3200. Mithin sind auch in diesen letzten Versuchen keine nennenswerten Unterschiede in der Antikörperbildung festzustellen.

Fassen wir das Ergebnis sämtlicher Untersuchungen nochmals kurz zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. a) Die kastrierten Tiere zeigten in 9 Vergleichsversuchen (1a, 1d, 1e, 3a, 3b, 4a, 5, 6, 9) eine Schwächung der Widerstandskraft gegen die betreffende Infektion. — b) Demgegenüber zeigte sich nur in 4 Versuchen (1b, 1c, 2, 4b) das kastrierte Tier widerstandsfähiger als das normale. — 2. Die Untersuchung der Antikörperbildung ergab keine verwertbaren Resultate, da die Unterschiede zu geringfügig ausfielen und in gegensätzlichem Sinne beobachtet wurden.

Wir sind uns wohl bewußt, daß sich aus unseren Versuchen keine weitgehenden Schlüsse ziehen lassen; doch haben wir geglaubt, auch über diese geringen und zum Teil gegensätzlichen Ergebnisse unserer Versuche berichten zu sollen, da der hier eingeschlagene Weg einen Beitrag zu dem heute so viel diskutierten Problem der Beziehungen zwischen Konstitution und Infektionsbereitschaft zu bieten schien. Wir wissen, daß sich nach Ausfall der Geschlechtsdrüsenfunktion im Körper eine gesetzmäßige Verschiebung im innersekretorischen Synergismus einstellt. Es kommt zu typischen Abweichungen von den normalen Körperformen und zu funktionellen Besonderheiten, welche den Kastraten zu einem einheitlichen Typ von konstitutionellem Werte machen. Dem entspricht ja auch, daß wir beim Menschen den Eunuchoidismus, der in seinem ganzen biologischen Verhalten dem Kastraten entspricht, als Konstitutionsanomalie ansprechen. Solche Typen wie der Eunuchoidismus zeigen uns, daß wir in der innersekretorischen Funktionssphäre resp. in den einzelnen ihr zugehörigen Organen Träger einer inneren Organisation vor uns haben, daß sie also zu den Trägern der Konstitution des Organismus gehören. Demnach erscheint es uns wohl möglich, durch experimentelle Eingriffe in den Synergismus der innersekretorischen Korrelation beim Tier Verhältnisse zu schaffen, die bis zu einem gewissen Grade gröberen Konstitutionsanomalien vergleichbar sind.

Zu der weiteren Frage, ob sich nach solchen Eingriffen die Reaktion des Organismus auf experimentell gesetzte Infektionen ändert, glauben wir nach unseren oben beschriebenen Versuchen wenigstens einen Beitrag geliefert zu haben. Es ist wohl anzunehmen, daß wir in der innersekretorischen Funktionssphäre bei der Infektion ebenso wie bei der Intoxikation ein Zwischenglied haben, über welches diese exogenen pathologischen Faktoren wirksam werden. Wir haben hiermit also unseres Erachtens einen wichtigen Faktor in der Pathogenese der Infektionskrankheit vor uns. Auf diesem Wege wird es vielleicht möglich, den noch dunklen Weg der Pathogenese, welcher zwischen der Aetio-

logie, d. h. dem Eindringen des Erregers in den Organismus, und der besonderen Gestaltung des klinischen Bildes liegt, etwas aufzuhellen, wie Fischer das schon in einer früheren Arbeit („Die Rolle der inneren Sekretion in der Pathogenese der exogenen Psychosen", Monatsschr. f. Psych. u. Neur. Bd. 55. 1924) versucht hat. Es handelt sich dabei um Zwischenglieder, von denen auch das Forschen nach den Schutzvorrichtungen des Organismus gegen den Infektionsstoff einen Ausgangspunkt nehmen kann.

Literatur.

1) Asher, Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 8. — 2) Bricker, Zeitschr. f. Tbk. Bd. 40. 1924. H. 2. — 3) v. Breuer u. v. Seiler, zit. nach v. Falkenhausen. — 4) v. Falkenhausen, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 103. 1924. H. 3/4. — 5) Fischer, H., Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych. Bd. 12. 1914. H. 3; Bd. 72. 1921. H. 4/5. — 6) Ders., Monatsschr. f. Psych. u. Neur. Bd. 48. 1920. — 7) Furuya, zit. nach Glusman. — 8) Glusman, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. 1924. H. 3/4. — 9) Lüthgje, zit. nach v. Falkenhausen. — 10) Pinzani, Ebenda. — 11) Scott, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 77. 1924. H. 9/10. — 12) Torelli, zit. Weyrauch. — 13) Weyrauch, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 101. H. 5/6.

Nachdruck verboten.

Ueber Gastroenteritis paratyphosa.

Von Dr. **Leonhardt**,
Leiter des hygienisch-bakteriologischen Laboratoriums der Stadt Bochum.

Mit 1 Tafel.

In den letzten Jahren waren in unserem Arbeitsgebiet nur vereinzelte Paratyphusfälle aufgetreten; in allen bakteriologisch positiven Fällen handelte es sich um typische Schleimwallbildner, klinisch, soweit bekannt, um typhöse Erkrankungen. Seit der Jahreswende 1925/26 ist nun eine Reihe von Fällen zur Untersuchung gekommen, die klinisch und bakteriologisch dem Typus Fleischvergiftung angehörten:

1) Silvester 1925. Mehrere Personen erkrankten nach dem gemeinsamen Genuß von Gehacktem akut an Brechdurchfall. Leichter Verlauf.
2) Februar 1926. 1 Todesfall an enteritischen Erscheinungen (Fall Dr.).
3) März 1926. Schwere akute Gastroenteritis; isolierter Fall. Dauer der akuten Erscheinungen 5 Tage (Fall Ep.).
4) März 1926. Fall S. „Ruhrverdacht".

Zwischen den einzelnen Erkrankungsfällen bzw. -Gruppen bestand kein nachweisbarer Zusammenhang. Das Gehackte des Falles 1 stammte aus einem einwandfreien Metzgerladen; es war wenige Stunden vor dem Genuß gekauft worden. Sämtliche Umgebungsuntersuchungen hatten negatives Ergebnis.

Die isolierten Stämme stammen bei der Gruppe 1 aus den Stühlen, und zwar bei der Mehrzahl der Erkrankten am 6. Krankheitstag, bei 1 erst am 15. Krankheitstag,

bei Fall 2 aus Leichenorganen,
bei Fall 3 aus Galleblutanreicherung am 3.—4. Krankheitstag,
bei Fall 4 aus Stuhl.

Die vorgeschriebenen Nachuntersuchungen des Stuhls waren bei sämtlichen Patienten negativ. Sämtliche Stämme zeigten, frisch isoliert, keine Schleimwallbildung. Unter typischer Schleimwallbildung verstehen wir nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur voll ausgebildete, makroskopisch prall erhabene, im auffallenden Licht weißlich porzellanartig glänzende Wälle, die im durchfallenden Licht bei schwacher Vergrößerung dunkel, mit radiärer Streifung erscheinen (Fig. 1 Schottmüller-Typ). Demgegenüber haben wir bei unseren Stämmen der Gruppe 1 zum Teil schon in der 2. Generation, bei anderen in der 3. Generation nach 5—8 Tagen Veränderungen beobachtet, die makroskopisch flache Erhabenheit der Randzone, mikroskopisch im durchfallenden Licht eine lichte Randzone zeigten, die gegen den Kern der Kolonie durch eine schmale, dunkelgranulierte Schicht abgegrenzt war; aus dieser granulierten Grenzschicht sahen wir bei weiteren Aussaaten in etwa 8 Tagen eine radiär gestreifte, breite Randzone hervorgehen. Später, nach 4 Monaten, wurden bei 4 Tage alten Kolonien dicke Wälle beobachtet, die von denen typischer Schleimwallbildner kaum mehr zu unterscheiden waren. Auch plötzliche Rückschläge ins wallfreie Stadium kamen vor. Ein Stamm war von Januar bis Mai im zugeschmolzenen Röhrchen stehen geblieben: die 1. Wiederaussaat zeigte nach 3 Tagen mikroskopisch eben erkennbare radiäre Auflagerungen am Rande der Kolonie (Fig. 2 und 3), nach 5 Tagen einen radiär strukturierten dunklen Saum, späterhin schmale Wälle (Fig. 4); bei weiteren Aussaaten schon nach 3 Tagen dicke Wälle. In einigen Fällen trat die Veränderung des Randes in einzelnen Gruppen von wurzelartigen Auflagerungen auf, deren unregelmäßige Begrenzung gegen das Zentrum der Kolonie auch später noch erhalten blieb (Fig. 5 und 6). Bildungen wie bei Fig. 5 sind uns auch bei einem Rattenschädling aus der Sammlung Kral in Wien begegnet (Fig. 12).

Serologisch verhielten sich die frisch isolierten Stämme der Gruppe 1 wie Schottmüller-Stämme, bei wiederholter Prüfung nach 6 Monaten agglutinierte der auch im Fütterungsversuch geprüfte Stamm mit Schottmüller-Serum kaum, mit Breslauserum bis 1:200 (Titer 3000); der Fütterungsversuch führte in $8^1/_2$ Tagen zum Tod der gefütterten weißen Maus.

Zur Zeit der Verfütterung bildete der Stamm in 4—5 Tagen ziemlich üppige Wälle: die Aussaat aus dem Herzblut der Maus zeigte schollenförmige Wallrudimente (vgl. Fig. 8).

Die nachträglich angestellte Rhamnosereaktion (Bitter, Weigmann und Habs) war positiv im Sinne von Enteritis Breslau.

Die Stämme von Fall 2 bis 4 (Nr. 484, 183 und 449) zeigten im allgemeinen übereinstimmendes Verhalten, so daß sie zusammen besprochen werden können. Auch sie bildeten keine Wälle; schon die 2. Generation ließ nach einigen Tagen bei mikroskopischer Betrachtung eine helle Randzone mit feinen, dunklen Auflagerungen erkennen. Diese Auflagerungen erschienen erst einzelstehend, wurzelartig (Fig. 7); später schlossen sie sich zu Schollen zusammen (Fig. 8). Ein anderes Mal traten die Auflagerungen von vornherein dichter auf (Fig. 9) und bildeten einen radiärgestreiften Saum, bei dem nur noch die unregelmäßige Begrenzung gegen das Zentrum der Kolonie auffiel (Fig. 10). Bei weiteren Ueberimpfungen wurde eine Weiterentwicklung zu Randzonen und schwachen Wällen auch makroskopisch festgestellt; zurzeit wachsen die Stämme völlig wallfrei (Fig. 11).

Agglutinatorisch verhielten sich die frisch isolierten Stämme wie Schottmüller-Stämme; bei einer neuerdings vorgenommenen Nachprüfung (im wallfreien Stadium) zeigten sie sich übereinstimmend als nahezu inagglutinabel mit Schottmüller-Serum; niedriger Titer mit Breslauserum.

Fütterungsversuche mit weißen Mäusen führten den Tod der Tiere in 7—9 Tagen herbei: aus der Milz und dem Herzblut wurden die Stämme wieder herausgezüchtet (völlig wallfrei).

Die Rhamnosereaktion war bei allen Stämmen positiv im Sinne von Enteritis Breslau.

Unsere aus Gastroenteritisfällen gezüchteten Stämme waren also vom Typus Schottmüller deutlich zu scheiden: das Fehlen der Schleimwälle bei den frisch isolierten Stämmen, die Mäusefütterungspathogenität und das spätere agglutinatorische Verhalten weisen unsere Stämme in die Gruppe des B. enteritidis Breslau. Bemerkenswert war das wechselnde Verhalten bezüglich der Bildung von Randzonen und Wällen bei längerer Beobachtung und Fortzüchtung, für das die Nährbodenzusammensetzung kaum verantwortlich gemacht werden konnte, da wir immer dasselbe Ausgangsmaterial, Hottinger-Brühe mit Pepton Witte, benutzten. Zu bemerken ist ferner die mangelnde Infektiosität des Blutgallestammes von Fall 3, der nach Abklingen der akuten Vergiftungserscheinungen glatt in Heilung ausging.

Kontaktinfektionen sind in keinem Fall aufgetreten.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Schottmüllertyp. 3 Tage alte Kolonie.
Fig. 2. Stamm 93. 3 Tage alte Kolonie.
Fig. 3. Stamm 93. 2 Tage alte Kolonie (nach mehreren Ueberimpfungen).
Fig. 4. Stamm 93. 9 Tage alte Kolonie.
Fig. 5. Stamm 89. 2 Tage alte Kolonie (Vergr. 47 ×).
Fig. 6. Stamm 89. Dieselbe Kolonie nach 3 Tagen (Vergr. 14 ×).
Fig. 7. Stamm 484. 3 Tage alte Kolonie.
Fig. 8. Stamm 484. 5 Tage alte Kolonie.
Fig. 9. Stamm 183. 3 Tage alte Kolonie.
Fig. 10. Stamm 449. 3 Tage alte Kolonie.
Fig. 11. Stamm 183. 4 Tage alte Kolonie (wallfreies Stadium).
Fig. 12. Rattenschädling. Sammlung Kral. 6 Tage alte Kolonie Vergr. 47 ×.

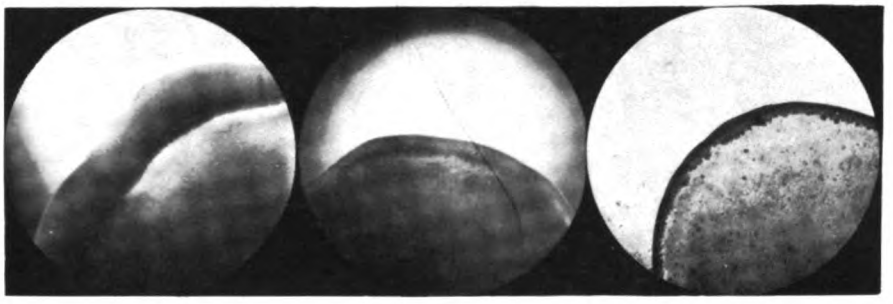
Nachdruck verboten.

Vibrio phosphorescens beim klinischen Bilde der Cholera und sein Zusammenhang mit anderen Vibrionen[1]).

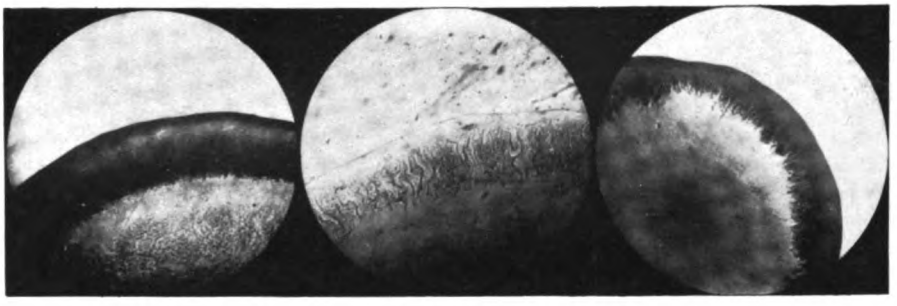
Von Dr. **S. Jermoljewa**, Rostow am Don.

Die wenigen Choleraepidemien der letzten Jahre in Rußland, die hauptsächlich in Rostow am Don aufgetreten sind, haben zu außerordentlich interessanten Beobachtungen Gelegenheit gegeben: Beim typischen klinischen Bild der Cholera wurde bei 3 Kranken unter 8 aus

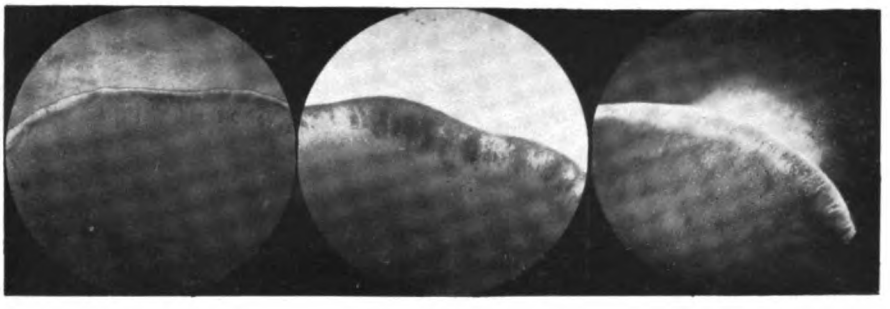
1) Vorgetragen auf dem 9. Allrussischen Bakteriologen- und Epidemiologenkongreß in Moskau.



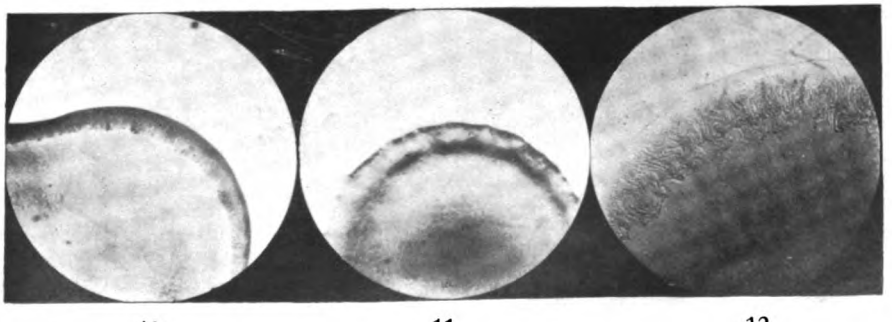
1 2 3



4 5 6



7 8 9



10 11 12

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

dem Darminhalt der Vibrio phosphorescens isoliert. Außerdem gelang es in 2 Fällen, die als „choleraverdächtig" bezeichnet waren, den V. phosphorescens zu isolieren. Der eine Fall erwies sich als Gastroenteritis und der andere als Typhus abdominalis; in letzterem wurde der V. phosphorescens aus der Galle des Verstorbenen isoliert. Bei der genauen Untersuchung aller Kolonien, die in den ersten Fällen aus dem Darminhalt und in dem letzten Falle aus der Galle isoliert waren und in der Mehrzahl auf Agar gezüchtet wurden, und die ihrem Wachstum nach dem V. cholerae nahestanden, erwiesen sich dieselben als ein Konglomerat des V. phosphorescens.

Ganz natürlich zwang sich die Frage auf, inwieweit der V. phosphorescens, der vom Menschen isoliert wurde, dem V. phosphorescens des Wassers und V. cholerae verwandt sei, und inwieweit er ferner als ätiologisches Moment der entsprechenden Erkrankung des Menschen angesehen werden kann.

Doch wollen wir zuvor nach den Daten des Krankenhauses das klinische Bild der einzelnen Fälle kurz beschreiben:

1. Fall. J. Sinebruchow, 39 Jahre alt. Erkrankte am 1. 7. 1924. Anamnese: ungekochtes Wasser, Mehlspeise mit Kirschen und gesalzener Fisch. 2. 7. zunehmender Durchfall und Erbrechen und am 3. 7. Auftreten von Krämpfen, allgemeine Schwäche und Zyanose. Vox cholerica. Urinierte von 1 Uhr nachmittags bis 10 Uhr morgens nicht. 4.—5. 7. Erbrechen, ab und zu Krämpfe und allgemeine Schwäche, Durchfall. 7. 7. Erbrechen, Stuhl 3mal täglich. 8. 7. Stuhl 3mal mit Blut. 9. 7. Stuhl 2mal. 10. 7. wird der Kranke entlassen. Am 4. 7. und 6. 7. wurde in großen Mengen der V. phosphorescens konstatiert, der beim Patienten im Laufe von 3 Wochen nach der Genesung nachweisbar war, während er bei dessen Angehörigen nicht konstatiert wurde. Das Leitungswasser in seiner Wohnung enthielt auch den V. phosphorescens.

Mit dem Serum des Kranken Sinebruchow wurde am 23. 12. ein Agglutinationsversuch mit 4 Stämmen des V. phosphorescens angestellt; ebenso mit einem Stamm, der durch den Organismus eines Kaninchens durchgeführt wurde, ferner mit V. phosphorescens aus Leitungswasser und dem Donwasser und einem V. cholerae.

Alle Stämme des Kranken Sinebruchow (direkte Antigene) agglutinierten in einer Verdünnung von 1:100 und der durch den Organismus des Kaninchens durchgeführte Stamm agglutinierte in einer Verdünnung von 1: 50. Alle übrigen Versuche (Serum des Kranken mit leuchtenden Vibrionen und Choleravibrionen) ergaben in allen Verdünnungen (sogar in einer Verdünnung von 1:10) negative Resultate. Die Reaktion nach Bordet ergab nur ++ (unvollständige Auflösung) mit Stämmen, die aus dem Darm des Kranken isoliert wurden. Das Pfeiffersche Phänomen fiel positiv aus.

2. Fall. S. Purnow, 65 Jahre alt. Erkrankte am 18. 8. nach Genuß von ungekochtem Wasser und Tomaten. Sie hatte vorher öfters gehungert. In der Nacht Durchfall, Erbrechen, Krämpfe. Stuhl 12—15mal am Tag. 19. 8. und 20. 8. kein Erbrechen mehr, selten Krämpfe. 21. 8. entschiedene Besserung. Am 19. 8. wurde der V. phosphorescens konstatiert, der sich noch im Laufe einer Woche aus dem Darminhalt der Kranken isolieren ließ. 14 Tage nach der Erkrankung wurde ein Agglutinationsversuch mit dem Serum der Kranken mit direktem Antigen angestellt, d. h. mit dem bei der Kranken isolierten Stamm, mit V. phosphorescens aus dem Donwasser und dem V. cholerae. Ein positives Resultat wurde nur in einer Verdünnung von 1:100 mit V. phosphorescens, der aus dem Darm der Kranken isoliert war, erhalten. Reaktion nach Bordet in vitro negativ.

3. Fall. Aus dem Laboratorium des Taganrogschen Bezirkskrankenhauses wurde die Aussaat des Darminhalts eines unter den typischen klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen der Cholera in Taganrog verstorbenen Kranken uns zugeschickt. Die isolierten, nicht agglutinierbaren Vibrionen wurden von uns bei näherer Untersuchung als leuchtende Vibrionen identifiziert. Sonst wurden weiter keine Vibrionen konstatiert.

4. Fall. Beim Kranken Mjakisch, bei dem die Diagnose auf Gastroenteritis lautete, wurde direkt auf Agar fast in reiner Kultur der V. phosporescens isoliert. Dieser Stamm agglutinierte mit dem Serum des Kranken in einer Verdünnung von 1: 200 und ergab nach der Methode von Bordet in vitro ein positives

Resultat ++++. Bei den anderen Vibrionen wurden in dem Serum des Kranken weder Agglutinine noch Lysine konstatiert.

5. Fall. Der Kranke G. Sikorsky wurde mit der Diagnose Typhus abdominalis am 2. 9. aus der Stadt Batajsk ins Bezirkskrankenhaus gebracht. Die Krankheit dauerte 9 Tage. Die Krankheitserscheinungen bestanden anfangs in allgemeinem Unwohlsein, Gliederschmerzen, Kopfschmerzen und Temperaturerhöhung. Der Arzt, an den sich der Kranke gewandt hatte, konstatierte Typhus abdominalis? Am letzten Tage trat plötzlich allgemeine Schwäche auf, außerdem Aufstoßen und Erbrechen. Am 3. 9. starb der Kranke. Aus dem Darm und aus der Galle (reine Kultur) wurde der V. phosphorescens isoliert.

Somit verhielt sich der in jedem einzelnen Falle bei Cholera oder Gastroenteritis isolierte Stamm zum menschlichen Organismus nicht indifferent, sondern bewirkte das Entstehen von Antikörpern — von Agglutininen und Lysinen.

Wir untersuchten die biochemischen und biologischen Eigenschaften der uns zur Verfügung stehenden 5 Stämme, die aus dem Menschen isoliert waren, um sie im Vergleich mit Wasser-, leuchtenden Vibrionen und Choleravibrionen richtig beurteilen zu können. Da alle 5 Stämme ihren biochemischen Eigenschaften nach identisch sind, so werden wir weiterhin allgemein von dem aus dem menschlichen Körper isolierten V. phosphorescens sprechen.

Morphologisch unterscheidet sich der V. phosphorescens gar nicht vom typischen V. Koch; er besitzt eine Geißel, bewegt sich ebenso energisch, trübt bei der Aussaat auf Pepton und Bouillon den Nährboden und bildet eine zusammenhängende Schicht an der Oberfläche; einige Stämme lassen bei Brutschranktemperatur Milch sogar im Laufe von 3 Monaten nicht gerinnen.

In Petri-Schalen mit Gelatine bilden sich nach 48 Std. bei 22° weißliche Punkte, die unter dem Mikroskop wie durchsichtige, einzelne Körner enthaltende Ringe mit glatten Rändern aussehen, und bereits nach Verlauf von 60 Std. entsteht eine Kolonie mit perlmutterähnlichem Glanz, umgeben von einer hellen Zone; die Gelatine fängt flüssig zu werden an.

Am 3. Tage ist der opalfarbene mittlere Teil der Kolonie tief in den Nährboden versunken und von einem breiten Ring flüssiger, undurchsichtiger Gelatine umgeben. Nach Verlauf einer Woche verwandelt sich die ganze Gelatine in eine mehr oder weniger trübe Flüssigkeit.

Der V. phosphorescens wächst bei einer Aussaat durch Nadelstich in einem mit Gelatine gefüllten Probierglas als glänzender Faden, ähnlich einem Kapillarröhrchen aus Glas, während an der Oberfläche sich bereits nach 36 Std. ein Trichter in Form einer in Gelatine gehüllten Luftblase bildet. Nach Verlauf von 5—6 Tagen wird die Gelatine flüssig, und die aus Vibrionen bestehende weißliche Masse sinkt auf den Boden des Probierglases. Das geronnene Blutserum bedeckt sich mit einer weißlichen Schicht, und bald darauf tritt Verflüssigung ein. Auf Kartoffelscheiben wird ziemlich saftiges, gelbliches Wachstum beobachtet.

Nach Verlauf von 16 Std. sind auf alkalischem Agar schon die charakteristischen zarten, fast durchsichtigen Vibrionenkolonien mit einem leichten hellblauen Anflug, der mit der Zeit opalfarben wird, zu sehen.

Der V. phosphorescens, der aus dem menschlichen Organismus isoliert wird, hat eine positive Nitroso-Indolreaktion, besitzt ein diastatisches Ferment und ruft Hämolyse hervor. Die Chlorresistenz beträgt

0,3 mg pro Liter. Im Laufe von 2 Tagen zerlegen alle diese Vibrionen Kohlehydrate: Mannit (wobei der Nährboden leicht getrübt wird), Galaktose, Lävulose, Glukose (wobei der Nährboden getrübt wird), ebenso Laktose und etwas später Maltose. Im Lackmusserum nach Petruschky wird eine leichte Trübung, und nach 3—4 Tagen Bildung von Säure beobachtet.

Die von uns erwähnten biochemischen Eigenschaften der isolierten Vibrionen deuten nicht nur auf ihre Verwandtschaft mit den leuchtenden Wasservibrionen, sondern zum Teil auch mit dem V. cholerae hin; von letzterem unterscheiden sie sich jedoch stark durch die Eigenschaft, auf die Dr. W. Slessarewskij bei wässerigen Vibrionen aufmerksam gemacht hat, — nämlich durch das Vermögen, im Dunkeln ein trübes, bläuliches Licht auszuströmen — zu phosphoreszieren. Bereits 6 Std. nach der Aussaat, wenn sich auf schrägem Agar ein kaum merkbares Wachstum der Vibrionen zeigt, ist bereits ein leuchtender Strich deutlich zu sehen. Nach 24 Std. wird die Leuchtkraft bereits schwächer und nach 2×24 Std. sind die Vibrionen „erloschen". Die Phosphoreszenz tritt jedoch bei neuer Aussaat auf einen anderen Nährboden sofort wieder auf.

Von den biologischen Eigenschaften der Vibrionen sind uns die Agglutination und die Bakteriolyse bekannt. Choleraserum agglutinierte die von der Kranken Purnowa und die aus Taganrog erhaltenen Stämme gar nicht; der beim Kranken Sikorsky isolierte Stamm wurde bei einer Verdünnung von 1:100 agglutiniert; der Sinebruchow-Stamm wurde gleich, nachdem er isoliert war, gar nicht agglutiniert. Nach der Aussaat auf Agar wurde er aber bei einer Verdünnung von 1:500 agglutiniert; der Stamm des Patienten Mjakisch wurde bei einer Verdünnung von 1:500 agglutiniert. (Titr.-Ser. 1:10000.)

Das Serum eines mit Choleravibrionen immunisierten Kaninchens weist keine lytischen Eigenschaften gegenüber den isolierten Stämmen auf.

Um das zwischen den isolierten leuchtenden Vibrionen, den leuchtenden Wasservibrionen und den Choleravibrionen bestehende Verhältnis klarzulegen, wurden mehrere Kaninchen immunisiert, und zwar daß 1. mit dem Stamm „Sinebruchow", das 2. mit dem Stamm „Sikorsky", das 3. mit dem aus Tanganrog erhaltenen Stamm, das 4. mit dem Stamm „Mjakisch", das 5. mit dem leuchtenden Stamm aus dem Donwasser, und das 6. mit dem V. cholerae. Mit dem von den Kaninchen erhaltenen Serum wurde eine direkte und kreuzweise Agglutinationsreaktion vorgenommen.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle I angeführt.

Aus diesen Versuchen ersehen wir, daß jedes der hergestellten Seren in mehr oder weniger starker Verdünnung diejenigen Stämme agglutiniert, welche zur Immunisierung verwendet wurden; in geringerer Verdünnung werden auch andere Kulturen agglutiniert. Nur die Seren „Sinebruchow", „Sikorsky" und zum Teil „Mjakisch" agglutinieren gegenseitig ihre Stämme bis zum Grenztiter.

Da die Agglutinationsreaktion uns noch keine sicheren Schlüsse über das gegenseitige Verhältnis aller Stämme zueinander ziehen läßt, mußten wir, um die Frage der Verwandtschaft zwischen den beim Menschen isolierten Vibrionen, den wässerigen leuchtenden Vibrionen und den Choleravibrionen lösen zu können, uns einer anderen Methode bedienen:

Kreuzweise Agglutination.

Nr. der Stämme	Serum d. Kaninch., imm. m. d. Stamm Sinebruch.	Serum d. Kaninch., imm. m. d. Stamm Sikorsky	Serum d. Kaninch., imm. m. d. Stamm aus Taganrog	Serum d. Kaninch., imm. m. d. Stamm Mjakisch	Serum d. Kaninch., imm. m. d. wäss. V. phos.	Cholera-serum
Sinebruchow	1:2000	1:2000	—	1:1000	1:100	1:200
Sikorsky	1:2000	1:2000	1:200	1:1000	1:2000	1:100
aus Taganrog	—	1:200	1:2200	1:200	—	—
Mjakisch	1:800	1:1000	—	1:1600	1:100	1:500
Purnowa	1:800	—	—	1:100	1:600	—
V. cholerae Nr. 1	—	1:100	1:100	1:200	1:200	1:10 000
„ phosph. Nr. 2	1:200	1:100	—	—	1:800	1:200
„ „ „ 3	1:100	—	—	—	1:800	—
„ „ „ 4	1:100	—	—	—	1:100	—
„ „ „ 5	1:100	1:25	—	1:25	1:200	—
„ cholerae „ 2	—	1:100	1:200	1:100	1:500	1:10 000
„ „ „ 3	—	1:100	1:100	1:100	1:100	1:10 000

Wir folgten dem Rat des Prof. Sawtschenko und stellten Versuche mit direkter und kreuzweiser, aktiver und passiver Immunisierung der Kaninchen an, d. h. wir versuchten festzustellen, inwieweit der gegen das direkte Antigen immune tierische Organismus dem zu prüfenden Stamme gegenüber unempfänglich erscheinen wird.

Seinerzeit haben Gruber, Wiener und auch Sanarelli sich dieser Methode bedient, um den Zusammenhang zwischen Wasser-Vibrionen und Choleravibrionen festzustellen. Auf ebendieselbe Weise hat Sawtschenko auf den Zusammenhang des V. cholerae mit dem V. Metschnikowi, den Gamaleja als „physiologische Modifikation des Choleravibrionen" betrachtet, hingewiesen. Jedoch hat Klein gezeigt, daß man Meerschweinchen gegen Choleravibrionen durch Mikroben immunisieren kann, die mit dem V. cholerae gar nichts gemein haben. Wenn man den B. coli, B. Eberthi und prodigiosus nach Klein, oder den B. subtilis nach Sobernheim, oder Blutserum oder destilliertes Wasser nach Issaew einspritzt, so kann nach Ansicht Pfeiffers nicht von regelrechter Immunität gesprochen werden, sondern nur von einer vorübergehenden Resistenzerhöhung, und zwar um so mehr, als z. B. Klein darauf hinweist, daß die auf diese Art erlangte Immunität nur wenige Tage andauerte. Was die Dauer der Immunität anbetrifft, so hat Olejnikow bessere Resultate erzielt (2 Monate), indem er mit dem B. coli und mit bei Gastroenterites isolierten Mikroben experimentierte.

Sogar wenn man der Erklärung beistimmt, welche Fraenkel und Sobernheim dieser gegenseitigen Immunisierung durch eine ganze Reihe von Bakterien geben, daß nämlich dabei von einer allgemeinen Infektion und auch von einer Immunisierung durch Proteine gesprochen werden kann, und daß die erhöhte Immunität nichts Neues, sondern nur eine quantitative Erhöhung ner natürlichen Kräfte des Organismus ist, müssen wir dennoch bemerken, daß diese quantitative Erhöhung der Kräfte, das Resistenzvermögen nicht allzu groß ist, wie man aus den zahlreichen Versuchen Olejnikows ersehen kann: es ist ihm bei seinen Versuchen mit V. Massava keinmal gelungen, Meerschweinchen durch verschiedene Mikroben gegen V. cho-

lerae in einer Dosis, die die tödliche um ein Weniges überstieg, zu immunisieren. Deshalb nahmen wir zu unseren Versuchen 5- und 10fach erhöhte Dosen verschiedener Vibrionenstämme. Im ganzen haben wir 80 Versuche an 70 Kaninchen und 10 Meerschweinchen durchgeführt. dabei wurden zu Versuchen mit aktiver Immunisierung 46 Kaninchen und 4 Meerschweinchen, mit passiver Immunisierung 24 Kaninchen und 6 Meerschweinchen genommen. Die Versuche wurden folgendermaßen angestellt: je 8—10 Kaninchen wurden intravenös mit lebenden Kulturen immunisiert, wobei das Gewicht der Versuchstiere in Betracht gezogen wurde. Die 1. Dosis war $^1/_8$—$^1/_4$ ccm pro Kilo; die zweite $^1/_4$—$^1/_2$ ccm; die dritte $^3/_4$ ccm; die vierte II/2 ccm. (1 Mrd. Standard pro 1 ccm.) Sodann wurde Kaninchenserum am 12. Tage nach der letzten Injektion auf die Anwesenheit von Agglutininen und Lysinen untersucht, und am 14. Tage wurde die 5- oder 10fache tödliche Dosis des zu untersuchenden Stammes intravenös oder intraperitoneal eingespritzt. Nach jeder Serie von Versuchen wurde zur Kontrolle die 10fache tödliche Dosis des direkten Antigens dem immunisierten Versuchstier injiziert.

Bei unseren Versuchen mit passiver Immunisierung bedienten wir und des Serums eines immunisierten Versuchstieres, indem wir ihm am 12. Tage nach der letzten Injektion Blut entnahmen und das Serum auf die Anwesenheit von Agglutininen und Lysinen prüften. Sodann wurde je 1 ccm des Serums einer Gruppe von Kaninchen intravenös, einer anderen intraperitoneal eingespritzt. Allen Meerschweinchen wurde das Serum intraperitoneal injiziert. Der einen Gruppe von Versuchstieren wurde nach Verlauf von 6 Tagen, der anderen nach 12 Tagen die doppelte tödliche Dosis des zu untersuchenden Stammes eingespritzt. Den Kontrolltieren wurde vorher normales Serum injiziert.

Unsere Versuche führten zu folgenden Ergebnissen:

1) Ein Kaninchen, das mit einem der 5 von uns isolierten leuchtenden Vibrionen immunisiert wird, verträgt die 10fache tödliche Dosis eines anderen leuchtenden Stammes, der beim Menschen isoliert wurde und der 14 Tage und sogar II/2 Monate nach der letzten Injektion eingeführt wird. — 2) Ein mit leuchtenden Vibrionen des Menschen immunisiertes Kaninchen verträgt 14 Tage nach der letzten Injektion die 10fache tödliche Dosis des wässerigen leuchtenden Vibrios, die 5fache Dosis des aus dem Donwasser isolierten, wässerigen, nicht leuchtenden Vibrios und die 5fache tödliche Dosis des V. cholerae. — 3) Ein mit leuchtenden Wasservibrionen immunisiertes Kaninchen verträgt die 10fache tödliche Dosis des beim Menschen isolierten V. phosphorescens. — 4) Ein mit V. cholerae immunisiertes Kaninchen verträgt die 5fache tödliche Dosis aller leuchtenden Stämme (unabhängig davon, ob sie vom Menschen oder aus dem Wasser isoliert wurden). — Die Versuche, bei denen Meerschweinchen mit Choleravibrionen und leuchtenden Vibrionen aus dem menschlichen Organismus immunisiert wurden, haben ebenfalls ergeben, daß die Versuchstiere die 5fache tödliche Dosis vertragen. — 6) Die mit B. coli immunisierten Kontrollkaninchen gingen bei der doppelten tödlichen Dosis des V. phosphorescens aus dem menschlichen Organismus ein.

Die Versuche mit passiver Immunisierung haben erwiesen, daß 1 ccm Serum eines Kaninchens, das mit einem vom Menschen isolierten Stamm immunisiert worden ist, 6 und 12 Tage nach der Injektion des Serums einem Kaninchen oder Meerschweinchen eingespritzt, dieselben

gegen die doppelte tödliche Dosis des V. cholerae schützt, während die Kontrolltiere, denen 1 ccm normales Serum injiziert wurde, bereits nach 24—30 Std. fielen.

Die bei den Versuchen mit der direkten und kreuzweisen Immunisierung von uns erzielten Resultate lassen mit Sicherheit auf die Verwandtschaft der aus dem Darm des Menschen isolierten Stämme mit den leuchtenden Wasservibrionen schließen, zugleich weisen sie aber doch auch auf einen gewissen Zusammenhang dieser Mikroben mit dem V. cholerae hin. In dieser Hinsicht bedarf es noch weiterer Versuche.

Es wäre jetzt noch die Frage der Pathogenität der leuchtenden Vibrionen klarzulegen. Schon öfter ist darüber gestritten worden, ob die leuchtenden Bakterien für Menschen und Tiere pathogen sind oder nicht. Im allgemeinen ist es bereits erwiesen, daß die in der Speise (im Fleisch oder Fisch) enthaltenen leuchtenden Bakterien keinen Schaden bringen; wenn aber leuchtende Bakterien ins Blut injiziert werden, so ist die Wirkung eine ganz andere. Giart und Biller haben mit leuchtenden Amphipoden experimentiert. Die Bakterien vermehrten sich im lebenden tierischen Organismus, und die Tiere gingen nach einigen Tagen ein. Bellner fand, daß die von ihm untersuchten leuchtenden Vibrionen für die Versuchstiere pathogen seien.

Da der von uns isolierte V. phosphorescens für Vögel (Tauben), Kaninchen, Meerschweinchen pathogen ist, so scheint es natürlich, die sehr wichtige Frage zu stellen, ob er auch für den Menschen pathogen sei. Die 4 Stämme, die wir aus dem Darm des Menschen isoliert hatten, unterschieden sich durch nichts voneinander, und nur der aus der Galle des Toten isolierte Stamm war doppelt so toxisch wie die übrigen.

$^1/_2$ ccm (Standard 1 Mlrd. in 1 ccm) dieses Stammes rief bei Tauben (intramuskulär), beim Meerschweinchen (Gew. 300,0 g, intraperitoneal) und beim Kaninchen (Gew. 750,0 intravenös) injiziert, den Tod binnen 24 Std. hervor, wobei alle Versuchstiere unter Erscheinungen der Septikämie fielen. Wenn wir nun dem Herzen der infolge intramuskulärer Infektion gefallenen Taube Blut entnehmen, so enthält letzteres ein großes Quantum Vibrionen; wenn wir eine Emulsion aus diesem Blute (bis 2 ccm Blut) einem Kaninchen intraperitoneal oder einer Taube intramuskulär einspritzen, so bleibt im Gegensatz zur Wirkung des V. Metschnikowi das Kaninchen am Leben. Aehnliche Resultate wurden auch mit dem Blute aus dem Herzen anderer Tiere erzielt.

Wenn wir somit die Vibrionen ihrer Toxizität nach in mehrere Kategorien einteilen, wobei wir als besonders toxisch diejenigen Vibrionen bezeichnen, die die Versuchstiere bei allgemeiner Infektion töten, und bei denen außerdem das Blut aus dem Herzen der gefallenen Tiere bei intramuskulärer oder intraperitonealer Injektion den Tod eines 2. Versuchstieres hervorruft, so müssen wir zu dieser ersten Kategorie V. Metschnikowi und V. Wlajewi rechnen. An 2. Stelle nach ihrer Toxizität stehen diejenigen Vibrionen, die gleich den ersten die Versuchstiere unter Septikämieerscheinungen töten, jedoch beim Uebertragen auf ein zweites ohne Wirkung bleiben. Zu dieser Kategorie gehören die bekannten Vibrionen, die Pasquale in Massana isoliert hat, und der V. phosphorescens, den wir beim Menschen isoliert haben. Was die Pathogenität der Vibrionen anbelangt, so

können wir sie natürlich nicht auf diese Weise differenzieren. Es ist bekannt, daß die Choleravibrionen ihrer Toxizität nach außerordentlich verschieden sind. Diese ist manchmal so gering, daß sogar große Mengen von Bakterien nicht genügen, um den Tod einer Taube oder eines Meerschweinchens hervorzurufen, andererseits kann sie aber so groß sein, daß ein Stich mit einer infizierten Nadel bei Tauben tödliche Septikämie hervorruft, wie dies bei den Versuchen von Gamaleja, Zäßlein, Vinzenti, Wlaew und Popow der Fall war.

Somit kann die Pathogenität unseres Vibrios für Tiere nicht von der Pathogenität des typischen V. Koch unterschieden werden. Uns scheint aber eine andere Frage, nämlich die der Pathogenität des V. phosphorescens, für den Menschen außerordentlich wichtig zu sein, da wir diese Vibrionen in 3 Fällen beim typischen klinischen Bild der Cholera festgestellt haben, während sonst keine anderen Vibrionen oder irgendwelche pathogenen Mikroorganismen gefunden wurden. Außerdem erschien der V. phosphorescens nicht ganz indifferent in bezug auf den Organismus, da letzterer durch spezifische Bildung von Antikörpern, von Agglutininen und Lysinen reagierte. Daraus folgt, daß wir ohne weiteres die Möglichkeit der Pathogenität des V. phosphorescens für den Menschen annehmen dürfen, d. h. daß er die mehr oder weniger schwere Form des klinischen Bildes der Cholera (3 Fälle) oder die leichtere Form, Gastroenteritis, hervorrufen kann.

Wenn ferner die in der Galle des Toten vorgefundenen Mikroorganismen nach Ansicht einiger Forscher (Kulesch) darauf deuten, daß man es mit einem echten Bazillenträger zu tun gehabt hat, so spricht die Tatsache, daß wir in der Galle des Toten Sikorsky den V. phosphorescens vorgefunden haben, für die Möglichkeit, daß es auch Bazillenträger gibt, welche Wasservibrionen beherbergen.

Unsere Darstellung führt zu folgenden Ergebnissen:

1) Es wird die Tatsache festgestellt, daß aus dem Darm des Menschen der V. phosphorescens isoliert werden kann (in 3 Fällen beim typischen klinischen Bild der Cholera). — 2) Die Anwesenheit von Antikörpern (Agglutinine und Lysine) im Serum des Menschen gegenüber dem isolierten Stamm beweist bis zu einem gewissen Grade, daß diese Stämme als das ätiologische Moment der entsprechenden Krankheit angesehen werden können, und zwar in 3 Fällen der Cholera und in einem Falle von Gastroenteritis. — 3) Die Verwandtschaft zwischen dem beim Menschen isolierten V. phosphorescens und den leuchtenden Wasservibrionen steht außer Zweifel. — 4) Die Anwesenheit des V. phosphorescens (in reiner Kultur) in der Galle des Toten spricht zugunsten der Möglichkeit, daß es Bazillenträger von Wasservibrionen gibt.

Nachdruck verboten.

Die Ursachen der antirabischen Paralysen (experimentelle und klinische Beobachtungen).

[Aus dem Swerdlowsker Bakteriologischen Institut (Dir.: Prof. Dr. Stepanow-Grigorjew).]

I. Mitteilung.

Von Dr. **Otto Herrmann**, Abteilungsleiter.

Die Frage betreffs der Ursache der antirabischen Paralysen wurde schon bald nach der Einführung der Wutschutzimpfungen aufgeworfen, jedoch ist man bis jetzt über dieselbe nicht einig geworden.

Die Lähmungen werden von einigen Untersuchern durch die Wirkung des abgeschwächten Straßenvirus (abortive Wut), von anderen als Impfschädigungen erklärt. Letztere werden wiederum von etlichen als Kaninchenlyssa angesprochen, von anderen als Folge des Wuttoxins oder der eingeführten normalen Nervensubstanz. Teilweise wird die Möglichkeit des zufälligen Zusammenfallens der Schutzimpfungen mit Paraplegien anderer Herkunft oder Wirkung der Mischkulturen und am wenigsten der Einfluß der Anaphylaxie angenommen.

Die meisten der Autoren bestehen eigentümlicherweise auf die einheitliche Ursache der Entstehung der antirabischen Lähmungen, obwohl gründlich verschiedene Ansichten dabei vertreten werden.

Lähmungen infolge des durch Wutschutzimpfungen abgeschwächten Straßenvirus und die abortive Wut.

Daß die Tollwut bei verschiedenen Tieren in völlige Heilung übergehen kann, ist schon von vielen Untersuchern bestätigt worden (Babes, Högyes, Vincent, Remlinger, Goldschmidt, Chmeljewsky und Skschiwan, Koch, Konradi, Herrmann u. a.).

Besonders demonstrativ ist die von Goldschmidt beschriebene abortive Wut eines nicht immunisierten Hundes, welcher während einer Seuche auf der Insel Madera beobachtet wurde.

Bei Tieren kann somit die Wut unter natürlichen Umständen und auch während des Experiments spontan ausheilen. Da die Menschen, was Empfänglichkeit für Wut anbelangt, sich nicht viel von Tieren unterscheiden, könnte man a priori zulassen, daß auch bei ersteren die Wut hin und wieder in Heilung übergehen kann.

Daß es in Wirklichkeit so ist, beweisen anschaulich die Fälle von Lebell und Vesesco, Broll und Koch.

Es sind auch nicht wenig andere Fälle beschrieben worden von Heilung furiöser Wut; da sie jedoch bei Erwachsenen vorkamen, so wurden sie immer als Lyssa imaginaria betrachtet. In den erwähnten Fällen dagegen kann davon keine Rede sein, da es sich dabei um Kinder handelt, bei denen doch keine Anfälle psychogener Natur zu erwarten waren.

Daß aber nicht nur Lyssa hin und wieder in Heilung übergehen kann, daß aber auch das Straßenvirus die uns interessierenden Paraplegien auslösen kann, zeigt deutlich der kürzlich beschriebene Fall von Knack. Die Inkubationsdauer bei den Versuchstieren von 17 bis 27 Tagen, die im Gehirn derselben vorgefundenen Negrikörperchen und die rasende Wut der infizierten Katze zeigen, daß die Lähmungen in diesem Falle durch das Straßenvirus hervorgerufen wurden.

Müller u. a. geben an, daß der auffällig frühzeitige Beginnn der Erkrankung nach der Bißverletzung gegen die Wirkung des Straßenvirus spricht und gelegentlich auf Impfschädigungen hinweist.

Meines Erachtens ist dies nicht der Fall. Von allen bei Simon angegebenen Lähmungen brach die Krankheit nur in einem Falle von Puscariu am 10. Tage nach dem Biße aus. Dann folgen nach der Liste von Simon 3 Fälle mit der Erkrankung nach 13 Tagen, 3 nach 14, 3 nach 15, usw.

Als die kürzeste Inkubationsdauer bei typischer Lyssa wird in der Weltliteratur meistens 12 Tage angegeben (der Fall Kozewalow). Jedoch sind in der ältesten Statistik von Bauer 10 Fälle mit einer Inkubation von 10 Tagen und weniger angegeben. Dawidowsky und Dwischkow geben neuerlich eine Inkubationsdauer von 8 Tagen sogar nach einer Handverletzung an. Szekely gibt 11 Tage an. Solch einen Termin findet man auch im Berichte der Samaraer Pasteur-Station für 1913, und zwar erfolgte dort der Tod schon nach 12 Tagen. Im Berichte des Tomsker Bakteriologischen Institutes für 1924 ist in einem Falle die Dauer von 12, im anderen von 13 Tagen angegeben. Ueberhaupt, was die Inkubationsdauer von 13—15 Tagen anbelangt, so ist dieselbe durchaus keine Seltenheit. Im Berichte der Samaraer Pasteur-Station für 1886—1914 finden wir 3 Fälle mit der Inkubationsdauer von 13 Tagen, 2 von 14 und 4 von 15 Tagen. Im Berichte der Odessaer Bakteriologischen Station für 1891—1906 sehen wir, daß die Lyssa 1mal nach 14 Tagen, 6mal nach 15 Tagen ausbrach und 1mal (im Berichte für 1895) sogar der Tod schon 14 Tage nach dem Bisse eintrat (nicht gesagt, wann erkrankt).

Wir sehen aus diesem, daß bei den antirabischen Lähmungen der kürzeste Termin des Ausbruches der Krankheit nach dem Bisse 10 Tage ist und dann etliche Male ein Termin von 13—15 Tagen folgt. Bei typischer Lyssa finden wir eine Inkubationsdauer von 8 und einige Male 11—12 Tagen (vielleicht könnte man beim Nachsuchen in verschiedenen Berichten noch kürzere Termine finden) und ziemlich oft die Dauer von 13—15 Tagen. Somit kann ein frühzeitiger Beginn der Erkrankung in keinem Falle uns beweisen, daß wir nicht mit dem Straßenvirus, sondern mit einer Impfschädigung zu tun haben.

Das Fehlen des maniakalischen und hydrophobischen Stadiums während der antirabischen Lähmungen wird auch als Beweis gegen die Wirkung des Straßenvirus angeführt, der Fall von Knack beweist aber das Gegenteil. Auch hat Babes bei einem Zigeuner eine stille Wut mit aufsteigenden Lähmungen beschrieben, wo Hydrophobie und Spasmen gänzlich fehlten und die Wut von Myelitis ascendens nur durch Verimpfung an Kaninchen unterschieden werden konnte. Uebrigens sind auch bei antirabischen Lähmungen Erregungszustände und sogar Phobien (fließender Uebergang von schwachen Andeutungen bis zu stark ausgeprägten Erscheinungen) beobachtet worden. Unruhe und Schlaflosigkeit sind bei Pelser unter Nr. 9, 10, 13, 21, 89, 103,

104, 107, 113—115, 121, 122 angegeben. Starke Unruhe oder nervöse Erregung findet man daselbst unter 28, 128, 136, Krampfanfälle unter 20, 90, 133, visionäre Halluzinationen unter 103—104, Delirien unter 98, 120 und maniakale Anfälle unter 51 und 120. Weiter finden wir nur Trockenheit im Halse unter 114, leichte Schluckbeschwerden unter 79 und 140, erschwertes Schlucken unter 9, 33, 87—88, 101, 117, 119, 133 und 139, absolute Schluckunmöglichkeiten unter 129. Lichtscheu ist unter Nr. 10 angegeben. Besonders scharf treten die typischen Symptome der Tollwut im Falle Bordoni-Uffreducci zu Tage, so daß sogar Babes, welcher entschieden gegen die Annahme der abortiven Wut auftritt, diesen Fall, wie auch den von Broll, als geheilte Wut anzuerkennen geneigt ist.

Die meisten Autoren, welche die Entstehung der antirabischen Paraplegien durch Straßenvirus in Abrede stellen, nehmen, um ihre Ansicht zu beweisen, Bezug auf solche einzelne Fälle, wo die Wirkung des Straßenvirus völlig auszuschließen ist. So z. B. haben etliche Gelähmte gar nichts mit Straßenvirus zu tun gehabt und wurden nur vorsichtshalber geimpft, da sie am Institut tätig waren (2 Fälle Borgers bei Pelser unter Nr. 57 und 107) oder erwies sich der entsprechende Hund als gesund, Lähmungen dagegen wurden beobachtet (bei Pelser Nr. 10, 29, 31, 33. 34, 49, 61, 70, 75, 101, 102, 130, 132, 133, 135, bei Koritschoner und Schweinburg Nr. XI, XXIII, bei Obrastzow u. a.).

Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß Schutzgeimpfte, welche nicht gebissen wurden, dennoch irgendwie mit virulentem Material in Berührung gekommen sind, da sie sich doch sonst schwerlich impfen lassen würden. Meinerseits ist aber ein Lyssafall beschrieben worden, wo ein nicht gebissenes, sondern wahrscheinlich von einem tollwütigen Hunde nur belecktes Mädchen, welches nicht schutzgeimpft wurde, an Wut starb.

Koch hat außerdem beobachtet, daß ein gebissener Hund durch Biß Tollwut mit tödlichem Verlauf übertragen hat, dabei aber selber gesund geblieben ist.

Der Frage betreffs der Gesundheit des beißenden Tieres wurde überhaupt beinahe stets nur nebensächliche Aufmerksamkeit geschenkt. Oefters findet man in der Statistik die Angabe, daß der Hund wahrscheinlich gesund war oder einfach „der Hund erwies sich als gesund", genau aber wird diese so wichtige Frage nicht erörtert. Wo Tierimpfungen veranstaltet wurden, hat man sich meistens mit der Infizierung eines einzigen Tieres begnügt, was aber nicht hinreichend ist. Die infizierten Tiere wurden alsdann im allgemeinen nur 2—3 Monate beobachtet, was ebenfalls bei weitem nicht genügt (Uffreducci, Abba-Bormans, Löte, Konradi, Herrmann u. a.), da die infizierten Kaninchen hin und wieder nach vielen Monaten, sogar nach $1^1/_2$—2 Jahren an Wut erkranken können.

Man muß aber zugeben, daß ein gewisser Teil der nach den Schutzimpfungen Gelähmten dennoch von gesunden Tieren gebissen wurde, da die Zahl der diesbezüglichen Fälle doch zu groß ist, als daß man sie irgendwie anders erklären könnte.

Auch muß man noch sagen, daß als Folge der massenhaften prophylaktischen Schutzimpfungen der Hunde (über 100000 Hunde in Japan und sehr vielen Tausenden in Amerika) laut Angabe Eichhorns in etlichen Fällen Paraplegien beobachtet wurden, da aber dabei

eine getötete Vakzine nach Umeno und Doi gebraucht wurde, so bleibt nichts anderes übrig als anzunehmen, daß entweder das Wuttoxin oder Gifte der normalen artfremden Nervensubstanz usw., nicht aber das lebende Virus die Lähmungen nach diesen Schutzimpfungen hervorgerufen hat.

Wenn man von vornherein zugibt, daß nicht alle antirabischen Paralysen, sondern nur ein Teil derselben durch Straßenvirus verursacht wird, so fallen aber obenerwähnte Gründe von selbst ab.

Kaninchenlyssa.

Als Beweis der Unschädlichkeit des fixen Virus hat Nitsch sich ca. 5 mm des Rückenmarks eines Passagekaninchens injiziert. Proescher hat zu diesem Zwecke zweien Menschen zu je einem frischen Großgehirn vom Passagekaninchen intramuskulär einverleibt und hat nachher Menschen mit fixem Virus immunisiert. Verschiedene Pasteurinstitute fangen die Schutzimpfungen mit frischem Virus in solchen Verdünnungen an, welche Kaninchen bei subduraler Infektion ohne Verzögerung töten. Auch nach der modifizierten Methode Pasteurs fängt man an mit Rückenmarken, welche für Kaninchen bei subduraler Applikation sich als virulent erweisen. Babes hat viele Hunde subkutan mit frischem Virus immunisiert, bei denen keine Wut ausbrach. Helman hat 8 Affen und 34 Hunden subkutan große Mengen des fixen Virus, ohne denselben zu schaden, eingeimpft. Beweist dies aber die Unschädlichkeit des fixierten Virus für Mensch und Tier?

Lange hat in seinen Versuchen mit Perlsuchtbazillen und Mäusetyphus gezeigt, daß viele Versuchstiere eine millionenfach stärkere Infektion vertragen als andere. Neufeld erklärt dies durch eine individuell verschiedene natürliche Widerstandsfähigkeit, welche bei verschiedenen Exemplaren in außerordentlich großen Grenzen schwankt. Man könnte deshalb schon a priori annehmen, daß auch bei der Einverleibung des fixen Virus etliche Personen vielleicht andstandlos sehr große Dosen vertragen können, für andere dagegen schon minimale Dosen sich als schädlich erweisen können.

Oben ist schon angegeben, daß Babes und Helman Versuchstiere mit fixem Virus schadenlos immunisiert haben, dagegen hat Pasteur ein anderes Resultat erhalten, als er 7 Hunden subkutan ein und dieselbe Dosis des fixierten Virus eingespritzt hatte. Einer von diesen Hunden erlag der Wut nach 7 Tagen. Krajuschkin hat 32 Hunden subkutan eine Emulsion des frischen Markes vom Passagekaninchen injiziert, davon erlagen 10 an Wut. Pokschischewsky immunisierte subkutan 10 Kaninchen mit Emulsion des Rückenmarkes von Passagekaninchen, von denen 3 an Abmagerung und Lähmungen und 1 Kaninchen an typischen paralytischen Erscheinungen starben.

Ungefähr dasselbe Resultat erhielt auch ich in einer Serie von Kaninchen, obwohl ich bis dahin eine ganze Reihe von Kaninchen verlustlos mit 4—1tägigen und 2 sogar mit 2—1tägigen Marken immunisiert hatte. So habe ich 10 Kaninchen eine Emulsion aus frischem Mark und Gehirn eines Passagekaninchen (1632. Passage) subkutan appliziert. Es wurde injiziert eine 20proz. Emulsion des frischen Rückenmarkes 3 Kan. zu je 1 ccm, 2 Kan. zu je 2 ccm, 2 Kan. zu je 5 ccm, 1 Kan. —20 ccm einer 5proz. Emulsion (in 4 Stellen) und

Tabelle

Biologische Veränderung des Virus fixe

Nr. der Serie	Nach wieviel Tagen nach der Infektion?	Subkutane Inf. mit V. f. Kan. 496 (am 14. 12. 25 1 ccm 20proz. Emuls.		1. Passage Kan. 510 vom Kan. 496 s. dur. 24. 12. 25		2. Passage Kan. 513 vom Kan. 510 s. dur. 31. 12. 25	
		Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen
1. Serie	Am Tage der Infekt.	—	1410 g	—	1350 g	—	1380 g
	1	38,6	1450 „	40,2	1245 „	—	—
	2	39,0	1440 „	39,2	1280 „	38,0	1125 „
	3	39,0	1460 „	40,9	1290 „	38,5	1050 „ krank
	4	38,7	1490 „	40,6 unter	1175 „ krank	37,5	970 „ gelähmt
	5	39,2	1480 „	30,4	1090 „ gelähmt	—	5. 1. morgens tot
	6	41,2	1400 „ krank	—	1055 „	—	—
	7	38,5	1285 „ gelähmt	—	31. 12. morgens tot	—	—
	8	35 2 unter	1190 „	—	—	—	—
	9	34,0	abends tot Tod nach 9½ Tagen	—	— Tod nach 7 Tagen (etwas weniger)	—	— Tod nach 5 Tagen (etwas weniger)
2. Serie		Kan. 504 (am 14. 12. 25 s. Kut. ½ Großhirn)		Kan. 511 vom Kan. 504 s. dur. 24. 12. 25		Kan. 516 vom Kan. 511 s. dur. 4. 1. 26	
	Am Tage der Infekt.	—	2400 g	—	1200 g	—	900 g
	1	39,1	2430 „	40,8	1065 „	38,7	—
	2	39,0	2445 „	38,6	1120 „	39,0	—
	3	39,0	2445 „	39,0	1145 „	38,8	—
	4	38,5	2490 „	39,0	1155 „	39,8	—
	5	39,1	2460 „	38,8	1150 „	41,0	krank
	6	39,6	2490 „	40,5	1160 „	40,0	—
	7	40,4	2480 „ krank	40,4	1165 „	35,0	gelähmt
	8	37,7	2310 „ gelähmt	40,3	1150 „	—	—
	9	35,5	2235 „	40,1	1105 „	—	—
	10	—	—	35,3	1055 „	—	—
	11		Tod nach 10 Tagen (etwas weniger)		Tod nach 11 Tagen (etwas weniger)		Tod nach 9 Tagen (etwas weniger)

2 Kan. zu je ½ Großhirn (in 3 verschiedene Stellen). Bei einem von denen, welchen 1 ccm injiziert wurde, trat eine Temperatursteigerung nach 6 Tagen auf (41,2°), nach 7 Tagen lag es gelähmt und nach 9½ Tagen vom Tage der Injektion ging es an der Wut zugrunde. Bei einem anderen Kaninchen, dem ½ Großhirn injiziert wurde, stieg die Temperatur nach 7 Tagen an (40,4°), es erlag der Wut nach 10 Tagen. Beim dritten Kaninchen, welchem ebenfalls ½ Großhirn eingespritzt wurde, stieg die Temperatur nach 8 Tagen an (40,7°), jedoch wurden weder Lähmungen noch Gewichtsverlust beobachtet, das Tier blieb gesund. Das 4. Kaninchen (1 ccm 20 Proz. injiziert) reagierte mit bedeutender Gewichtsabnahme bei normaler Temperatur (von 2760 bis auf 2440 g im Laufe von einem Monat). Daß die beiden Kaninchen an Wut zugrunde gingen, zeigt Tab. 1, aus welcher ersichtlich ist, daß in beiden Fällen Uebertragungen in 8 Passagen ausgeführt worden sind.

ach subkutaner Infektion von Kaninchen.

3. Passage		4. Passage			
Kan. 523 vom Kan. 513 s. dur. 11. 1. 26		Kan. 548 vom Kan. 523 s. dur. 19. 1. 26		Kan. 556 vom Kan. 523 s. dur. 29. 1. 26	
emp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen
—	1120 g	40,5 [1])	1105 g [1]) 1 Std. n. d. Inf.	—	2730 g
39,5	—	39,7	—	40,3	—
39,0	—	39,7	—	38,9	—
41,0	—	41,0	krank	40,5	krank
40,2	—	40,5	gelähmt	39,7	—
35,3	—	35,1	24.—25. 1. nachts tot	38,0	gelähmt
—	17. 1. morgens tot	—	—	35,7	—
					5. 2. tot um 1 Uhr
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
	Tod nach 6 Tagen (etwas weniger)		Tod nach $5^1/_2$ Tagen		Tod nach 7 Tagen (um $^1/_2$ Std. weniger)
Kan. 524 vom Kan. 516 s. dur. 13. 1. 26		Kan. 551 vom Kan. 524 s. dur. 20. 1. 26		Kan. 552 vom Kan. 524 s. dur. 21. 1. 26	
40,2	1175 g	—	2760 g	—	1075 g
40,0	—	39,2	—	39,2	—
39,0	—	39,3	—	39,0	—
40,2	krank	40,2	krank	40,6	krank
41,2	—	39,7	—	40,5	—
40,5	gelähmt	40,6	—	40,3	—
unter 35,0	—	38,6	gelähmt	37,0 unter	gelähmt
—	—	36,2	—	34,0	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
	Tod nach 7 Tagen (etwas weniger)		Tod nach 7 Tagen 6 Stunden		Tod nach $7^1/_2$ Tagen

Diese Tabelle zeigt noch, daß das fixierte Virus, welches nach subduraler Infektion der Kaninchen stets eine gleiche Inkubationsdauer verursacht (bei uns Steigerung der Temperatur nach 3, manchmal nach 4 Tagen und Lähmungserscheinungen nach 4—5 Tagen), begann, nachdem es einmal subkutan appliziert wurde, bedeutende Schwankungen in der Inkubationsperiode zu geben. Dabei veränderte sich ein und dasselbe Virus unerwartet so, daß es in einer Reihe von subduralen Passagen ganz andere Virulenz aufwies, als in einer anderen Reihe, und somit gleichsam 2 verschiedene Stämme erhalten wurden. In der ersten Serie von der 2. Passage an tötete das Virus kleine Kaninchen nach ungefähr $5^1/_2$ Tagen, danach fing es allmählich an sich abzuschwächen und tötete sodann ebensolche Kaninchen nach ca. $6^1/_2$—$7^1/_2$ Tagen. In der 2. Serie wurde das Virus zuerst abgeschwächt, es tötete nämlich ein kleines Kaninchen nach subduraler Infektion nach 11 Tagen, danach wurde es allmählich stärker und in der 6. und 7. Passage tötete es schon

Tabelle 1

Nr. der Serie	Nach wieviel Tagen nach der Injekt.?	5. Passage				6. Passage			
		Kan. 558 vom Kan. 548 s. dur. 29. 1. 26		Kan. 578 vom Kan. 556 s. dur. 11. 2. 26		Kan. 580 vom Kan. 558 s. dur. 11. 2. 26		Kan. 587 vom Kan. 578 s. dur. 20. 2. 26	
		Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen
1. Serie	Am Tage d. Infekt.	—	1220 g	—	1250 g	—	1150 g	—	1150 g
	1	39,4	—	39,1	—	39,0	—	41,3	—
	2	39,0	—	40,0	—	39,3	—	39,0	—
	3	40,2	krank	41,1	krank	41,1	krank	40,4	krank
	4	40,9	—	40,0	gelähmt	40,9	—	40,8	—
	5	36,4	gelähmt	37,4 unter	—	37,4 unter	gelähmt	39,1 unter	gelähmt
	6	—	4. 2. morgens tot	34,0	17.—18. 2. nachts tot	34,3	—	35,0	—
	7	—	—	—	—	—	—	dgl.	—
	8	—	—	—	—	—	—	—	—
	9	—	—	—	—	—	—	—	—
			Tod nach 5 Tag. 17 Std.		Tod nach $6^1/_2$ Tagen		Tod nach $6^1/_2$ Tagen		Tod nach $7^1/_2$ Tagen
		Kan. 557 vom Kan. 551 s. dur. 29. 1. 26		Kan. 559 vom Kan. 552 s. dur. 3. 2. 26		Kan. 579 vom Kan. 557 s. dur. 11. 2. 26		Kan. 586 vom Kan. 569 s. dur. 20. 2 26	
2. Serie	Am Tage d. Infekt.	—	1070 g	—	1155 g	—	1280 g	—	1175 g
	1	39,1	—	39,7	—	39,2	—	40,6	—
	2	39,0	—	39,1	—	38,6	—	39,0	—
	3	40,2	krank	38,5	—	39,0	—	40,2	krank
	4	40,5	—	40,5	krank	40,7	krank	40,5	—
	5	40,6	—	40,3	—	41,4	—	40,0	—
	6	40,1	—	40,0	—	41,1	—	38,4 unter	gelähmt
	7	39,0 unter	gelähmt	39,5	gelähmt	37,8 unter	gelähmt	35,0	—
	8	35,0	—	35,9	—	34,5	—	dgl.	—
	9	—	—	—	—	dgl.	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—
	11		Tod nach 8 Tag. 18 Std.		Tod nach $8^1/_2$ Tagen		Tod nach $9^1/_2$ Tagen		Tod nach $8^1/_2$ Tagen

kleine Kaninchen ebenfalls nach $6^1/_2$—$7^1/_2$ Tagen. Somit waren beide Vira in ihrer Virulenz nach 7 Passagen ausgeglichen und zwar das erste durch Abschwächung, das zweite durch Verstärkung.

Aus diesen Versuchen ist noch ersichtlich, daß in einem Falle ein Kaninchen nach subkutaner Injektion von 0,2 g des Rückenmarkes an Wut zugrunde ging, im anderen Falle dagegen ein Kaninchen am Leben blieb, obwohl demselben ca. 4,0 g des Großhirns einverleibt wurde, also zwanzigmal soviel und um etliche Hunderte Male virulenter (nach Nitsch ist das Großhirn bedeutend virulenter als das Rückenmark). Dies beweist deutlich, in welch großen Grenzen die individuelle Widerstandsfähigkeit der Kaninchen gegen Virus fixe bei subkutaner Infektion schwankt. Um somit die völlige Unschädlichkeit des fixen Virus für den Menschen bei subkutaner Einverleibung zu beweisen, müßte man nicht so wenig injizieren, wie es Nitsch oder sogar Proescher getan haben, sondern mindestens 20 Kaninchengroßhirne, unter Berücksichtigung des Gewichtsunterschiedes zwischen Mensch (ca. 60 kg)

(Fortsetzung).

7. Passage				8. Passage			
Kan. 588 vom Kan. 580 s. dur. 20. 2. 26		Kan. 597 vom Kan. 587 s. dur. 2. 3. 26		Kan. 598 vom Kan. 588 s. dur. 2. 3. 26		Kan. 607 vom Kan. 597 s. dur. 11. 3. 26	
Temp.	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen	Temp	Bemerkungen	Temp.	Bemerkungen
—	1215 g	—	1120 g	—	1105 g	—	1120 g
40,5	—	39,4	—	39,1	—	39,5	—
39,1	—	39,0	—	39.6	—	39,2	—
40,4	krank	40,4	krank	40,6	krank	41,1	krank
39,9	—	40,6	—	40,3	—	41,0	—
38,2	gelähmt	38,5	gelähmt	38,2	gelähmt	39,0	gelähmt
unter		unter		unter		unter	
35,0	—	34,7	—	34,7	—	34,6	—
dgl.	—	dgl.	—	dgl.	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
	Tod nach $7^1/_2$ Tagen		Tod nach $7^1/_2$ Tagen		Tod nach $7^1/_2$ Tagen		Tod nach $6^1/_2$ Tagen
Kan. 589 vom Kan. 579 s. dur. 22. 2. 26		Kan. 596 vom Kan. 586 s. dur. 2. 3. 26		Kan. 604 vom Kan. 589 s. dur. 9. 3. 26		Kan. 606 vom Kan. 596 s. dur. 11. 2. 26	
—	1200 g	—	1080 g	—	1200 g	—	1280 g
40,2	—	39,1	—	38,5	—	39,1	—
39,0	—	39,0	—	38,7	—	39,0	—
39,5	—	39,5	—	40,7	krank	39,9	—
40,8	krank	39,8	—	40,0	—	40,3	—
40,8	—	38,5	krank	39,0	gelähmt	40,0	—
		unter		unter			
36,7	gelähmt	34,5	gelähmt	35,0	—	35,3	—
unter						unter	
34,5	—	dgl.	—	—	—	34,5	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
	Tod nach 7 Tagen		Tod nach $7^1/_2$ Tagen		Tod nach $6^1/_2$ Tagen		Tod nach $7^1/_2$ Tagen

und Kaninchen 505 (1500 g) und zwar nicht einem oder zwei Menschen, sondern einer ganzen Reihe.

Die paradoxe Angabe von etlichen Untersuchern (Pasteur, Krajuschkin, Remlinger — zit. nach Babes), daß kleine Dosen des fixen Virus bei subkutaner Applikation eher Tollwut hervorrufen als große, ist in diesen meinen Versuchen und an Meerschweinchen, wie weiter angegeben, nicht bestätigt worden.

Um zu sehen, wie das fixe Virus auf Meerschweinchen bei subkutaner Applikation wirkt, habe ich 10 Meerschweinchen damit subkutan infiziert, und zwar Meerschw. 626 und 627 zu je 1 ccm einer 2 Proz. Emulsion, Meerschw. 628 und 629 zu je einer 10 Proz., Meerschw. 632 und 633 zu je 2 ccm einer 20 Proz. und Meerschw. 634 und 635 zu je 6 ccm einer 20 Proz. Emulsion. Davon erlagen an Wut 6 nach 5 Tagen 3 Std. bis $7^1/_2$ Tagen (Meerschw. 629, 630, 632—635), bei Meerschw. 626 und 628 war am 4. Tage eine geringere Temperatursteigerung (39,0 resp. 39,2°), das Gewicht aber wurde größer (2.4 —

Tabelle II. (Biologische Veränderung des Virus fixe nach subkutaner Infektion vom Meerschweinchen.)

Nr. der Serie	Nach wieviel Tagen nach der Infektion	Subkut. Infektion mit Virus fixe			1. subdurale Passage				2. subdurale Passage			
		Meerschw. 629 (1. 4. 1 ccm 4proz. Emuls.)			Kan. 648 I v. M. 629 am 13. 4.			Kan. 649 I v. M. 629 am 13. 4.				
		Temp.	Bemerk.		Temp.	Bemerk.		Temp.	Bemerk.			
1. Serie	0	—	260 g		—	1450 g		—	2325 g			
	1	39,3	—		40,2	—		41,1	—			
	2	38,4	—		38,5	—		38,8	—			
	3	38,9	—		40,8	krank	Tod nach 6½ Tagen	40,0	krank	Tod nach 7½ Tagen		
	4	38,4	—		40,2	—		38,8	gelähmt			
	5	38,7	—		36,2 unter	gelähmt		38,5	—			
	6	39,3 unter	krank		34,5	—		35,7 unter	—			
	7	34,0	gelähmt	Tod nach 7½ Tagen	—	—		34,5	—			
		Meerschw. 630 (1. 4. 2 ccm 10proz. Emuls.)			Kan. 646 I v. M. 630 am 13. 4.							
		Temp.	Bemerk.		Temp.	Bemerk.						
2. Serie	0	—	295 g		—	1390 g						
	1	39,0	—		41,0	—						
	2	38,5	—		40,0	—						
	3	38,5	—		40,6	krank	Tod nach 7½ Tagen					
	4	37,9	—		39,9	—						
	5	37,0 unter	krank		38,4 unter	gelähmt						
	6	34,0	gelähmt		34,5	—						
	7	dgl.	—	Tod nach 7 Tagen	dgl.	—						
		Meerschw. 632 (1. 4. 2 ccm 20proz. Emuls.)			Kan. 647 I v. M. 632 am 13. 4.							
		Temp.	Bemerk.		Temp.	Bemerk.						
3. Serie	0	—	335 g		—	1700 g						
	1	38,5	—		40,0	—						
	2	38,0	—		38,8	—						
	3	38,0	—		41,0	krank	Tod nach 7½ Tagen					
	4	39,5	krank		40,6	—						
	5	36,9 unter	gelähmt		39,1	gelähmt						
	6	34,0	—		38,0 unter	—						
	7	dgl.	—	Tod nach 7 Tagen	34,5	—						

4. Serie

	Meerschw. 633 (1. 4. 2 ccm 20proz. Emuls.)			Kan. 641 I v. M. 633 am 13. 4.			M. 656 II v. Kan. 641 am 20. 4.			Kan. 655 II vom Kan. 641 am 20. 4.		
	Temp.	Bemerk.	Tod nach 7 Tagen	Temp.	Bemerk.	Tod nach 5½ Tagen	Temp.	Bemerk.	Tod nach 5½ Tagen	Temp.	Bemerk.	Tod nach 7½ Tagen
0	—	280 g		—			—	340 g		—	1240 g	
1	39,1	—		41,1	—		39,0	—		39,6	—	
2	38,1	—		38,9	—		38,5	—		39,4	—	
3	38,8	—		41,0	krank		38,9	—		40,3	krank	
4	38,2	krank		40,0	—		37.5	krank		40,5	—	
5	38,4	—		35,0	gelähmt		unter 34,0	gelähmt		39,3	—	
6	34,7	gelähmt		—	—		—	—		35,3	—	
7	unter 34,0	—		—	—		—	—		unter 34,0	gelähmt	

5. Serie

	Meerschw. 634 (1. 4. 6 ccm 20proz. Emuls.)			Kan. 643 I v. M. 634 am 13. 4.			M. 642 I v. M. 634 am 13. 4.			M. 654 II v. M. 642 am 20. 4.			M. 658 vom Kan. 643 am 20. 4.		
	Temp.	Bemerk.	Tod nach 6½ Tagen	Temp.	Bemerk.	Tod nach 5½ Tagen	Temp.	Bemerk.	Tod nach 4 Tag. 1 Std.	Temp.	Bemerk.	Tod nach 4 Tag. 19 St.	Temp.	Bemerk.	Tod nach 6 Tagen (um 1 St. weniger)
0	—	300 g		—	1460 g		—	325 g		—	330 g		—	1140 g	
1	39,7	—		40,0	—		38,5	—		38,1	—		40,0	—	335 g
2	38,5	—		40,1	—		38,0	—		39,6	krank		39,5	—	—
3	38,8	—		40,1	—		39,0	—		38,0	—		40,6	krank	krank
4	38,8	—		36,5	gelähmt		unter 34,0	gelähmt		unter 34,0	gelähmt		39,4	—	gelähmt
5	38,8	krank		unter 34,5	—		—	—		—	—		37,0	—	—
6	unter 34,0	gelähmt		—	—		—	—		—	—		unter 34,0	gelähmt	—
7	—	—		—	—		—	—		—	—		dgl.	—	—

6. Serie

	Meerschw. 635 (1. 4. 6 ccm 20proz. Emuls.)			Kan. 645 I v. M. 635 am 13. 4.			M. 644 I v. M. 635 am 13. 4.		
	Temp.	Bemerk.	Tod nach 5 Tag. 3 St.	Temp.	Bemerk.	Tod nach 6 Tag. 1 St.	Temp.	Bemerk.	Tod nach 4½ Tagen
0	—	290 g		—	1235 g		—	—	
1	38,4	—		40,8	—		39,4	—	
2	38,3	—		39,0	—		39,0	—	
3	38,7	—		41,1	krank		36,0	krank	
4	38,6	krank		40,0	—		unter 34,0	gelähmt	
5	unter 34,0	gelähmt		unter 34,5	gelähmt		—	—	
6	—	—		dgl.			—	—	

340 resp. 290 g; 28.4 — 455 resp. 445 g), die übrigen Meerschw. 627 und 631 haben aber auf die Infektion gar nicht reagiert, obwohl dem Meerschw. 631 um 10mal mehr eingespritzt wurde als dem Meerschw. 626, welches mit Temperatursteigerung reagierte, und um 5mal mehr als dem Meerschw. 629, welches der Wut erlag. Wir sehen also, daß auch die individuelle Widerstandsfähigkeit der Meerschweinchen dem Virus fixe gegenüber bei subkutaner Applikation in ziemlich großen Grenzen schwankt. Aus der Tab. II ersieht man, daß auch hier das Virus fixe bei weiteren subduralen Passagen verschiedenartige Virulenz aufgewiesen hat. So erlagen nach der ersten subduralen Passage Kan. 646 und 647 nach $7^1/_2$ Tagen, von ebensolcher Größe Kan. 641 und 643 dagegen nach $5^1/_2$ Tagen. Meerschw. 642 erlag nach der ersten Passage nach 4 Tagen 1 St., Meerschw. 648 dagegen nach der 2. erst nach 6 Tagen usw.

Aus den Mitteilungen von Levaditi u. Nicolau über die Neurovakzine, von Gildemeister u. Herzberg über Herpes febrilis, von Collier über den Rekurrensstamm usw. ersehen wir, wie mannigfaltig und unerwartet sich verschiedene Vira nach fortwährenden Tierpassagen verändern können; es ist deshalb nicht zu verwundern, wenn auch das fixierte Wutvirus, wie meine Versuche gezeigt haben, in seinen Eigenschaften verschiedene Abweichungen unerwartet aufweist. Wollen wir uns auch an die Versuche Fermis erinnern, welcher bewiesen hat, daß das in verschiedenen Instituten angewandte Virus für Mäuse bei subkutaner Infektion eine Pathogenität in verschiedensten Graden erwiesen hat.

Es ist somit nicht anzunehmen, daß das fixierte Virus seinen Eigenschaften nach etwas beständiges ist, wie der Name zeigt; man kann deshalb sogar bei subkutaner Applikation desselben stets die ernstesten Komplikationen, sogar den Tod erwarten, wie die Versuche an Tieren beweisen.

Was die Lähmungen nach Schutzimpfungen anbelangt, so werden solche wahrscheinlich teilweise durch das fixe Virus hervorgerufen. Dieselben werden von manchen Autoren überhaupt ausschließlich durch die Wirkung des fixen Virus erklärt. Leider fehlt aber allen diesen Behauptungen die Beweiskraft, da meines Erachtens bei den Beweisen stets der unrichtige Weg eingeschlagen wird.

Als Beweis der Existenz der Kaninchenlyssa wird hauptsächlich die kurze Inkubationsdauer bei positiven Uebertragungen der Wut auf Kaninchen mit dem Gehirn der an diesen Lähmungen Verstorbenen angeführt.

Als klassisches Beispiel wird öfters der Fall von França angeführt. Die histologische und biologische Untersuchung des Hundes, welcher den Patienten gebissen hat, gab ein negatives Resultat. Von 2 Kaninchen, welche mit der Zerebrospinalflüssigkeit des Patienten subdural infiziert wurden, erlag eines an Wut am 13 Tage (das zweite wahrscheinlich später). 2 weitere Kaninchen, welche mit dem Gehirn dieses Kaninchens sub duram infiziert wurden, gingen am 9. Tage zugrunde. Wir wollen nun sehen, was diese Tatsachen beweisen. Da der Hund nach histologischer und biologischer Untersuchung als gesund angesprochen wurde, so ist es klar, daß ein klinisches Bild der Wut bei demselben nicht beobachtet wurde, daß also das Tier wahrscheinlich dann getötet wurde, als noch keine Symptome der Wut vorhanden waren.

In solchem Falle war aber auch ein positives Resultat entsprechend den Versuchen von Bertarelli, Negri-Luzzani u. a. kaum zu erwarten, da doch die Negri-Körperchen gewöhnlich nur von den ersten Tagen nach dem Ausbruche der Krankheit an vorgefunden werden. Was den negativen Ausfall der biologischen Probe anbelangt, so war auch dieses sehr leicht zu erwarten. In den Versuchen von J. Koch hat sich das Gehirn und Rückenmark der mit Straßenvirus infizierten Hunde nur nach 2 Tagen und später nach dem Ausbruch der Krankheit als virulent erwiesen, dagegen war es am Tage, als die ersten Symptome beobachtet wurden, noch nicht virulent. Die Veränderungen treten im Gehirn bei der Wut nicht in allen Teilen gleichzeitig, sondern herdförmig auf, so daß ein Teil des Gehirns noch avirulent sein kann, während der andere schon ansteckungsfähig ist. Andererseits ist der Speichel wutkranker Tiere öfters schon 3—6 Tage vor Ausbruch der Symptome infektiös (Versuche von Roux und Nocard, Rabieaux, Nicolas) oder manchmal noch viel früher (Beobachtungen von Babes, Zaccaria, Konradi, Pampoukis, Herrmann). Es konnte somit sehr leicht vorkommen, daß der Speichel des Hundes schon infektionsfähig, das untersuchte Stückchen Gehirn aber noch avirulent war. Weiterhin sagt França nicht, wie lange die infizierten Kaninchen beobachtet wurden. Wahrscheinlich also wie üblich nicht länger als 2—3 Monate, dagegen ist es nun festgestellt, daß manchmal diese Tiere viele Monate, sogar 1—2 Jahre unter Beobachtung sein müssen und auch dann vielleicht noch keine genaue Antwort gegeben werden kann.

Auch die subdurale Infektion mit fixem Virus ruft nicht immer den Tod der Versuchstiere hervor. So blieben im Odessaer Bakteriologischen Institut im Jahre 1921 von 395 Passagekaninchen 6 am Leben, 1922 von 345 Kan. 7, 1923 von 223 sogar 10.

Was den weiteren Beweisgrund von França zugunsten der Wirkung des fixen Virus anbetrifft, so beweist die Tatsache, daß ein Kaninchen am 11. Tage erkrankte und am 13. zugrunde ging, und daß nach der 2. Passage beide Kaninchen nach 9 Tagen erlagen, eigentlich eher das Gegenteil. Wir sehen, daß das Kaninchen in der ersten Passage nur nach 13 Tagen zugrunde ging, also nach einem Termin, welcher ziemlich oft durch Straßenvirus verursacht wird. Nach der 2. Passage war die Inkubationsdauer bedeutend kürzer, was auch nicht gegen das Straßenvirus spricht. Auch der verhältnismäßig schnelle Tod (9 Tage nach der 2. Passage) sagt nichts gegen das Straßenvirus. Blasi und Russo-Travali geben an, daß von 374 mit Straßenvirus infizierten Kaninchen bei einem Tiere die Lähmungen schon am Ende des 3. Tages ausbrachen und der Tod schon nach 7 Tagen eintrat. In 3 weiteren Fällen traten die Lähmungen am 7. Tage, bei 3 am 8., bei 2 am 10., bei 5 am 11. und bei vielen am 12—13. Tage ein.

Calabrese hat an 280 mit Straßenvirus von Hunden, Katzen, Hammeln etc. infizierten Kaninchen eine Inkubationsdauer von 7 Tagen in 3 Fällen, von 8 in 7, von 9 in 6, von 10 in 4, von 11 in 10 und von 12—13 Tagen in sehr vielen Fällen beobachtet. Mit dem Gehirn eines Hammels hat er Kaninchen in 24 Passagen infiziert, dabei betrug die Inkubationsdauer stets 7—8 Tage. In einer anderen Serie hat Calabrese mit dem Gehirn eines Hundes Kaninchen in 28 Passagen infiziert und dabei stets die Inkubation von 6—7 Tagen beobachtet.

Im Samaraer Pasteurinstitut erkrankten (1911—1914) von 82 Kaninchen, welche mit Straßenvirus infiziert wurden, am 8. Tage 1, am 9. — 3, am 10. — 4, am 11. — 3, am 12. — 6 usw.

Im Odessaer Bakteriologischen Institut erlagen 1903—1907 von 240 mit Straßenvirus inokulierten Kaninchen am 7. Tage 17, am 8. — 19, am 9. — 13, am 10. — 12, am 11. — 22, am 12. — 24 Kaninchen. Somit erlagen in Odessa während dieser Zeit 107 Kaninchen (45 Proz. der Gesamtzahl) früher als das Kaninchen von França nach der 1. Passage.

Der Fall von França beweist also nur, daß die Lähmung vom Wutvirus ausgelöst wurde, jedoch ist es nicht aufgeklärt worden, ob vom fixen oder Straßenvirus. Da der Patient an der Lähmung unter Schluckbeschwerden starb, so ist es zu bedauern, daß das Gehirn des Verstorbenen nicht untersucht wurde. Vielleicht würde man dann bessere Resultate zu verzeichnen gehabt haben.

Was die Fälle von Bareggi, welche ebenfalls Kaninchenlyssa beweisen sollen, anbetrifft, so sind dieselben überhaupt wenig untersucht worden. Bareggi sagt, laut Simons Angabe, gar nichts über die Bißverletzungen und über die Tiere, welche gebissen haben. Es ist nur bekannt, daß 5 Schutzgeimpfte etliche Tage nach Beendigung der Kur erkrankten und dann an paralytischer Wut starben. Die Krankheit dauerte bei keinem länger als 1 Woche. Kaninchen, welche mit dem Gehirn derselben infiziert waren, erkrankten nach 5—6 Tagen und erlagen an Wut nach 7 Tagen. Also ist der einzige Beweis zugunsten der Kaninchenlyssa die kurze Inkubationsdauer bei den infizierten Tieren, was aber, wie schon oben gezeigt wurde, gar nicht entscheidet, ob man mit Straßenvirus oder fixem Virus zu tun hat.

Dasselbe kann man auch vom Falle Goldberg und Oszesalsky sagen, wo ebenfalls nichts vom beißenden Tiere erwähnt wird und nur Bezug genommen wird auf 3 infizierte Kaninchen, welche am 8. Tage erlagen, was, wie wir wissen, nichts gegen das Straßenvirus spricht.

Aus diesem Grunde sagt auch der Fall von Kozewalow nichts gegen das Straßenvirus, umsomehr, da in seinem Falle die Patientin vom sicher tollwütigen Hunde „A" gebissen wurde.

Der zugunsten der Kaninchenlyssa angefürte Fall von Higier beweist eher das Gegenteil, da von 4 infizierten Kaninchen etliche nur nach 3 Wochen erlagen, also nach einem für Straßenvirus und nicht für das fixe Virus charakteristischen Termin.

Auch die Fälle von van den Genderen beweisen in dieser Hinsicht nicht viel. In einem Fall soll ein an Lyssa gestorbener Knabe von einem gesunden Affen gebissen worden sein. Das zeitweilige Verschwinden des Affen muß aber schon verdächtig erscheinen. Der verschiedenartige Ausfall der i. cer. Verimpfung mit dem Gehirn des Knaben von 5 Kaninchen (1 tot nach 8, 2 nach 11, 1 nach 15 Tagen und 1 gesund) zeigt eher, daß der Lyssatod durch Straßenvirus verursacht wurde.

Auch ihre beiden anderen Fälle, in welchen bei Versuchstieren Negrikörperchen gefunden worden sind, zeugen eher für das Straßenvirus.

Das sind nun alle Fälle, in welchen durch Uebertragungen auf Kaninchen versucht wurde zu beweisen, daß antirabische Lähmungen durch das Laboratoriums-Virus verursacht werden. Wir sehen jedoch, daß sie nur den Tod durch das Wutvirus, nicht aber durch welches

beweisen. In etlichen Fällen ist, wie schon erwähnt, eher die Wirkung des Straßenvirus anzunehmen.

Zugunsten der Kaninchenlyssa wird noch stets angegeben, daß, je intensiver geimpft wird, desto häufiger solche Lähmungen vorkommen. Solch eine Abhängigkeit würde aber, falls sie wirklich bestehen sollte, nur, wie Koritschoner und Schweinburg richtig behaupten, für Impfschaden überhaupt und nicht speziell für die Wirkung des fixen Virus sprechen. Man muß aber sagen, daß Autoren, welche den Zusammenhang der Lähmungen mit der Intensität beweisen, sich öfters widersprechen. So war in Wien, laut Angabe von Koritschoner und Schweinburg, während 1894—1915 unter 7632 Schutzgeimpften keine einzige Lähmung, dagegen von 1915—1923 unter 6764 Personen 39 Lähmungen, obwohl die ganze Zeit dort die Methodik ohne Veränderung blieb und überhaupt das Schema nicht intensiv war, da nur 8—2tägiges Mark gebraucht wurde. Kozewalow aber behauptet, daß er, als in Charkow nur 3—2tägige Marke im Gebrauch und ältere Marke ausgeschaltet waren, keine Lähmungen beobachtet hat, als er aber zum 1täg. überging, wurden Lähmungen massenhaft bemerkbar. Ueber die Art dieser Lähmungen, welche nur 1—2 Tage dauerten, werde ich genauer im Abschnitt über psychogene Lähmungserscheinungen eingehen, an dieser Stelle möchte ich aber nur notieren, daß Kozewalow nur 2 ernste Lähmungsfälle veröffentlicht hat, einen 1903, welcher in Heilung überging, und den 2. 1914 mit letalem Ausgange, und zwar erfolgten beide zu einer Zeit, als eintägiges Mark in Charkow gar nicht gebraucht wurde.

Die allgemeine Bezugnahme auf die Lähmungen bei Puscariu, Jassy beruht augenscheinlich auf einem Mißverständnis. Es wird angezeigt, daß in Jassy, als die intensive Methode eingeführt wurde, von 2613 Geimpften 15 Personen an Lähmungen erkrankten, als man aber die Methodik abänderte, weitere Lähmungen nicht beobachtet wurden. Was für Lähmungen dort vorkamen, werden wir im Abschnitt über Lähmungen psychogener Herkunft besprechen, hier dagegen wollen wir nachsehen, welcher Art Abänderungen in der Methodik waren, d. h. welches Impfschema gebraucht wurde, als Lähmungen vorkamen, und wiederum dann, als unter 3000 Schutzgeimpften keine einzige Lähmungserscheinung beobachtet wurde. Von 1896 bis 1901 wurde, laut Angabe Simons, eine Hirnemulsion angewendet, welche während 15 Min. auf eine verschiedene Temperatur von 80 bis 45° erwärmt (das Hirn, welches ca. 10 g wiegt, wurde mit 100 g phys. Kochsalzlösung verrieben, somit wurde ungefähr eine 10proz. Emulsion erhalten) zu 2—3 ccm täglich 2mal injiziert wurde. Puscariu hat also, als er Lähmungen zu verzeichnen hatte, entweder avirulentes oder sehr abgeschwächtes Hirn gebraucht. Als Puscariu die Methodik änderte, wurden die absolut avirulenten, d. h. auf 70—80° erwärmten Emulsionen gänzlich ausgeschaltet. Gebraucht wurden nur bis auf 65—45° erwärmte, also entweder avirulente oder ganz schwache Emulsionen. Injiziert wurde täglich zu 3—5 g. Bei solchem Schema ist auf 3000 Personen keine Lähmung beobachtet worden. Wenn wir nun beide Methoden vergleichen, so werden wir bemerken, daß die veränderte Methodik nicht schwächer, sondern eher stärker ist, obwohl beide Modifikationen überhaupt als sehr schwach zu betrachten sind, da nur avirulente oder höchstens Emulsionen von sehr schwacher Virulenz gebraucht wurden.

Zum Beweis der Abhängigkeit der Häufigkeit der Paralysen von der Intensität der Behandlungsweise wird noch auf die Methode Babes hingewiesen; dieser hat dagegen gezeigt, daß die von ihm beobachteten 10 Lähmungen gerade bei Personen vorkamen, welche nach dem schwachen Schema geimpft wurden. Unter den nach der intensiven Methodik Geimpften ist nur eine Lähmung verzeichnet worden.

Auch van Genderen sucht aus ihrem Material den Zusammenhang der Intensität mit den Lähmungen zu beweisen. Sie findet, daß Lähmungen nicht vorkamen, wenn 1täg. Mark nach der Methode Pasteurs nicht vor dem 10.—5. Tage einverleibt wurde, falls aber früher, so wurden Lähmungen beobachtet. Es ist klar, daß in der Frage betreffs der Genese der antirabischen Lähmungen, welche doch verhältnismäßig selten sind, man sich nicht auf geringe Zahlen, wie es van Genderen tut, stützen darf, aber auch aus diesem Material könnte man nach Wunsch gerade einen ganz entgegengesetzten Schluß ziehen. So waren es, als 1tägiges Mark am 4. Tage eingeschaltet wurde, 8 Lähmungen auf 578 Geimpfte, also 1:60, als 1tägiges am 3. Tage eingeführt wurde, waren es 3 auf 216, also nur 1:72, und als am 2., waren es 2 auf 205, also nur 1:102. Mit anderen Worten, je früher man 1tägiges Mark einschaltete, desto seltener wurden Lähmungen beobachtet.

Auf ebensolchem schwankenden Grunde ist die entsprechende Behauptung desselben Autors betreffs der Lähmungen nach der Methode Högyes gebaut, wo wiederum, auf kleine Zahlen gestützt, zu beweisen gesucht wird, daß Lähmungen dann entstehen, wenn im Laufe von 3 Wochen ungefähr 0,3 g des frischen Virus fixe einverleibt wird, wenn aber weniger, keine Lähmungen mehr ausgelöst werden, obwohl auch unter ihren Fällen eine Lähmung nach dem schwachen Schema, als weniger injiziert wurde (nicht gesagt wieviel), vorkam und andererseits wieder während 1908—1909 keine Lähmungen zur Beobachtung kamen, obwohl 40 Personen in 3 Wochen zu 0,765 g, also um $2^1/_2$mal mehr als die Grenzdose, einverleibt wurde.

In Deutschland wurden nach Pelser 1907—1920 34 antirabische Lähmungen beobachtet. Zur Aufklärung des Einflußes der Intensität der Methode auf die Häufigkeit der Paralysen wurden in Berlin verschiedene Schemata eingeführt. Papamarku machte dabei den Versuch, auf Grund des Berliner Materials zu beweisen, daß je intensiver die Behandlung, desto häufiger die Lähmungen vorkamen. Da aber, wie schon oben erwähnt, die Lähmungen unter normalen Verhältnissen nur sehr selten vorkommen, die Beobachtungen in Berlin jedoch an sehr geringem Materiale gemacht wurden, so muß man dieselben als mißlungen betrachten. Jede zufällige Lähmung kann bei solchen geringen Zahlen die erhaltenen Wechselbeziehungen vollständig ändern. Damit ist auch zu erklären, daß man aus dem Berliner Material, falls man die Geimpften nicht in künstliche Gruppen einteilt, wie es Papamarku getan hat, beliebige Schlüsse ziehen kann. Nach dem Schema Ia wurden 737 Personen behandelt (es waren dabei 6 Lähmungen, also 1:122), nach dem Schema Ib — 166 (2 Lähmungen oder 1:83), nach IIa — 116 (0 Lähmungen), nach IIb — 52 (0 Lähmungen), nach IIc — 725 (0 Lähmungen), nach IId — 94 (1 Lähmung) und nach III — 263 (0 Lähmungen). Wir sehen also, daß nach dem intensivsten Schema Ia Lähmungen nur 1:122, nach dem

schwächeren Schema Ib aber 1:83 und nach dem bedeutend schwächeren Schema IId Lähmungen 1:94 beobachtet wurden.

Die Frage betreffs des Einflusses der Intensität der Methodik auf die Häufigkeit der Lähmungen muß mit Hilfe von weit größerem Materiale, als es Papamarku anführt, gelöst werden. Wenn man nun die Statistik anderer Institute ausnützt, so wird man diese Abhängigkeit nicht konstatieren können. So sieht man, wie schon oben gesagt, an dem bedeutend größeren Wiener und Bukarester Material absolut keine Abhängigkeit der Häufigkeit der Lähmungen von der Behandlungsweise.

Diese Abhängigkeit fehlt auch bei dem besonders großen Odessaer Material. Von 1886—1922 wurden am Odessaer Bakteriologischen Institut 77950 Personen geimpft. Während dieser Zeit wurden, soweit es mir bekannt ist, nur 4 Lähmungen beobachtet (Heidenreich in 1901, 2 — Chmeljewski und Skschiwan — 1899 und 1901, 1 — Obrastzow — 1910), also 1 Lähmung auf 19487 geimpfte Personen. Sie wurden gerade dann bemerkt, als eine weniger intensive Methode im Gebrauch war (s. meinen Artikel: Pasteurimpfungen in Odessa, die Methodik und das Wesen derselben). In Odessa wurde 1tägiges Mark in schweren Fällen schon vom Jahre 1887 an gebraucht. Die Methodik wurde allmählich immer intensiver und intensiver. 1911 bis 1922, als 1tägiges Mark in mittleren und schwereren Fällen schon vom 3.—4. Tage an bis 12mal während des Kursus eingeschaltet wurde, wurden im ganzen 35993 Personen geimpft und bei diesen gar keine Lähmungen beobachtet.

Das Material des Warschauer Pasteurinstituts, wo 1tägiges Mark von 1893 an gebraucht wurde, zeigt ebenfalls keine Abhängigkeit der Häufigkeit der Paralysen von der Behandlungsweise. Von 1893 bis 1908 wurden in Warschau 16402 Personen schutzgeimpft, dagegen sind daselbst während dieser Zeit nach Pelser keine Lähmungen vorgekommen.

Nach Pelser kamen in Deutschland bis 1913 9 Lähmungen vor, von 1916—1920 25 Lähmungen und später sind wiederum keine Lähmungen beobachtet worden, also ungefähr $^3/_4$ aller Paralysen fallen auf 5 für Deutschland sehr schwere Jahre.

Stiner spricht die Vermutung aus, daß nun vielleicht eine erhöhte Krankheitsbereitschaft des Zentralnervensystems existiert, da in den letzten Jahren in der Schweiz und in Tschechoslowakien öfter als früher Poliomyelitis, Encephalitis und Menigitis beobachtet werden. Er erklärt dies durch den Einfluß des Krieges, durch veränderte Lebensverhältnisse und insbesondere der Ernährung. Thomson gibt an, daß in vielen Staaten Europas, unter anderem in Oesterreich, Deutschland, England und Dänemark Meningitis öfter und mit größerer Heftigkeit während des Krieges und teilweise auch nach dem Kriege als in früheren Zeiten beobachtet wurde.

Dieser Umstand kann vielleicht auch die häufigen antirabischen Lähmungen in Deutschland (25 in 1916—1920) und in Oesterreich (39 von 1915—1923) erklären, um so mehr, da in Wien die Methodik, bevor die Lähmungen ausbrachen und später, nicht geändert wurde und sie überhaupt nicht als intensiv bezeichnet werden kann (8—2tägige Marke).

Somit ist es nicht bewiesen, daß eine Abhängigkeit der Häufigkeit der Paralysen von der Intensität der Behandlungsweise vorliegt.

Falls dies aber dennoch der Fall sein würde, so würde damit noch nicht gesagt sein, daß das fixe Virus die Lähmungen verursacht, sondern nur, daß wir mit Impfschädigungen zu tun haben, welche vielleicht auch durch Wuttoxin, normale Nervensubstanz, Anaphylaxie etc. erzeugt werden können.

Pelser gibt im ganzen 28 Todesfälle nach antirabischen Lähmungen an, bei Koritschoner und Schweinburg sind noch 6 und bei van Genderen noch 5 neue Fälle. Bei diesen 39 Fällen wurde das Wutvirus in 14 Fällen gefunden (Bareggi 5, Franzius, França, Koch, Higier, Goldberg und Oczesalski, Kozewalow zu je einem und van Genderen 3). In allen positiven Fällen bleibt die Frage offen, ob wir mit Laboratoriums- oder Straßenvirus zu tun haben, obwohl in etlichen Fällen, wie oben beschrieben, vieles für das Letztere spricht.

Was die meisten anderen Fälle der antirabischen Lähmungen anbetrifft, so ist dort die Ursache gar nicht bekannt; es ist möglich, daß viele derselben überhaupt nicht durch das Wutvirus erzeugt wurden.

Wie oben gezeigt, kann das fixe Virus nicht als indifferent für den Menschen betrachtet werden, sogar bei subkutaner Applikation, man kann deshalb die Möglichkeit der Kaninchenlyssa nicht leugnen. Nachdem aber alle Fälle, welche als Beweis der Kaninchenlyssa angeführt werden, möglichst objektiv analysiert wurden, muß man sagen, daß der Einfluß des fixen Virus auf antirabische Lähmungen noch nicht als bewiesen zu betrachten ist. Dazu wäre nötig, festzustellen, daß Lähmungen bei solchen Personen beobachtet wurden, welche in absolut keine Berührung mit Straßenvirus kamen, und daß deren Speichel, Blut oder Zerebrospinalflüssigkeit, zu Lebzeiten oder nach dem Tode entnommen, sich als virulent erwiesen haben[1]).

Schlußfolgerungen.

Es ist als bewiesen zu betrachten, daß es eine abortive Form der Wut gibt, und daß antirabische Lähmungen durch das Straßenvirus ausgelöst werden können. Jedenfalls aber gibt es auch antirabische Lähmungen anderer Art, da ein bedeutender Teil derselben nicht durch Straßenvirus erklärt werden kann, z. B. Fälle, in denen die Geimpften entweder von gesunden Tieren gebissen worden sind oder überhaupt sich nur vorsichtshalber haben impfen lassen. Es sind zu viel solcher Fälle bekannt, als daß man sie ignorieren könnte. Es wurden auch Lähmungen bei Hunden beobachtet, welche nach der Methode Umeno und Doi mit abgetöteter antirabischen Vakzine prophylaktisch geimpft worden sind.

Da der Mensch sich im allgemeinen zum Tollwutvirus so verhält, wie verschiedene Tiere, das fixe Virus aber nach subkutaner Applikation manchmal bei Affen, Hunden, Meerschweinchen, Ratten, Mäusen

1) Dieser Beweis ist vielleicht im neulich erschienenen Artikel von Busson (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 99) gegeben, wo über ein Mädchen berichtet wird, welches im Scherz von einem jungen Manne gebissen wurde, sich danach nach der Methode Högyes immunisieren ließ und später unter paralytischen Erscheinungen starb, wobei ihr Gehirn sich im Tierversuch als virulent erwies (aber auch dieser Fall ist nicht ganz klar).

und Kaninchen die Tollwut bei denselben hervorrufen kann, so ist kein Grund vorhanden, das Laboratoriumsvirus als harmlos für den Menschen bei subkutaner Einverleibung zu betrachten, um so mehr als dasselbe subkutan injiziert überhaupt, wie meine Versuche gezeigt haben, unerwartet seine biologischen Eigenschaften verändern kann. Die Versuche von Nitsch und auch von Proescher genügen nicht zum Beweise der Unschädlichkeit des fixen Virus. Aus meinen Versuchen ist zu schließen, daß dazu wenigstens 20 Kaninchenhirne auf einmal subkutan injiziert werden müßten und nicht 2, sondern einer ganzen Reihe von Menschen.

Bei subkutaner Applikation des Virus fixe kann man auch bei Menschen stets die schwersten Folgen, vielleicht sogar den Tod an Wut erwarten.

Die Existenz der durch fixes Virus hervorgerufenen Lähmungen (Kaninchenlyssa) kann man aber noch nicht als zweifellos bewiesen ansehen, da bis jetzt alle zugunsten der Kaninchenlyssa angeführten Beweise wenig überzeugend sind. Dazu wäre nötig zu beweisen, daß Personen, welche absolut nichts mit Straßenvirus zu tun hatten, nach antirabischen Impfungen gelähmt wurden, und daß deren Speichel, Blut, Zerebrospinalflüssigkeit oder Gehirn für Versuchstiere in etlichen Passagen sich als virulent erwiesen hat.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Versuche über die abtötende Wirkung des Aetzkalkes gegenüber Milzbrandkeimen mit besonderer Berücksichtigung der Gerbereiabgänge.

[Aus dem Staatlichen Veterinär-Untersuchungsamt Potsdam (Leiter: Veterinärrat Dr. Standfuß).]

Von Dr. **V. Goerttler,** I. Assistenten.

Mit 6 Tabellen im Text.

Ein ziemlich erheblicher Prozentsatz der aus dem Auslande eingeführten Häute ist mit Milzbrandkeimen behaftet, die einerseits eine, wie die Statistik (Burkhardt, Giulini) lehrt, keineswegs geringe Gefahr für die mit ihrer Verarbeitung beschäftigten Personen darstellen und andererseits die Hauptursachen für die Verbreitung des Milzbrandes unter dem Viehbestande sind. Auf diese Gefahren haben neuerdings Müssemeier sowie Francke und Standfuß wieder hingewiesen. Um diese Gefahren zu verhüten, stehen 2 Wege offen: 1. Die Einfuhr infizierter Häute wird überhaupt unterbunden, oder 2. durch geeignete Desinfektionsmaßnahmen werden die an den Häuten haftenden und im Gerbereischlamm befindlichen Milzbrandkeime vernichtet. Die erstgenannte Maßnahme, die von Glynn, Himmelstoß, Legge, Müs-

semeier, Francke, Standfuß und Schnauder, Reichel und Gegenbaur und den Veterinärbehörden der Tschechoslowakei gefordert wird, bietet naturgemäß die größere Sicherheit. Manche Autoren sprechen sich indessen auch für die Desinfektion der milzbrandverdächtigen Häute und der Gerbereiabgänge aus (Abt, Brekle, Brezina, Friedberg, Hailer, Hewlett, Koelsch, Laubenheimer, Reichel, Reidel und Gegenbaur, Schnürer u. a.). Für die Desinfektion von Häuten ist eine große Anzahl von Verfahren angegeben. Es sei vorweggenommen, daß sich keines der mitgeteilten Verfahren als für praktische Verhältnisse geeignet erwiesen hat. Dies liegt daran, daß es bei der Desinfektion der Häute nicht nur auf die Vernichtung der Milzbrandsporen ankommt, sondern vor allem auch eine Schädigung der Häute und Felle bezüglich ihrer Gerbfähigkeit und Güte zu vermeiden ist; außerdem muß das Verfahren billig sein.

Milzbrandsporen sind ein beliebtes Testobjekt für die Prüfung von Desinfektionsmitteln. Aus der beigefügten Tabelle I geht hervor, daß eine Abtötung der Milzbrandkeime mit den verschiedensten Mitteln zu erzielen ist, gleichzeitig aber läßt sich aus dieser Zusammenstellung auch ersehen, wie sehr die von den einzelnen Untersuchern erzielten Ergebnisse voneinander abweichen. Nach den Versuchen von R. Koch Tab. I, Nr. 7) wirkt eine 1proz. Sublimatlösung nach 15 Min. Einwirkung abtötend auf Milzbrandsporen. Ottolenghi stellt dagegen fest, daß eine 5,4proz. Lösung (Nr. 16) erst nach 24 Std. und eine 2,7proz. Lösung (Nr. 19) gar erst nach 9 Tagen die Milzbrandsporen vernichtet. Seymour-Jones gab die Abtötungszeit bei seinem Ver-

Tabelle I.

Abtötung von Milzbrandsporen durch verschiedene Desinfektionsmittel.

Laufende Nr.	Desinfektionsmittel	Verdünnung	Abtötungszeit	Quellennachweis
1	Jodtrichlorid	1proz.	3 Minuten	zit. nach Poppe
2	Chlor, Brom	0,03–0,06proz.	6 „	
3	Kresepton	5proz.	5 „	Stolpe
4	Sagrotan	2,5proz.	6 „	Schottelius
5	Soda bei 85° C	1,4proz.	10 „	
6	Kaliumpermanganat	4proz.	15 „	
7	Sublimat	1 prom.	15 „	R. Koch
8	Grotan	1proz.	20 „	Schottelius
9	Wasserstoffsuperoxyd	3proz.	60 „	
10	Chlorkalk	0,3—4proz.	ca. 1 Stunde	Hilgermann u. Marmann
11	Formalin	12—15proz.	$1^1/_2$ Stunden	zit. nach Poppe
12	Kreolin	5proz.	6 „	
13	Schattenfroh'sches Verfahren	8proz. HCl	7–12 „	Reichel u. Gegenbaur
14		10proz. HCl	> 24 „	Hilgermann u. Marmann
15	Phenol (37° C)	3proz.	24 „	zit. nach Poppe
16	Sublimat	5,4proz.	24 „	Ottolenghi, Poppe
17	Seymour-Jones-Verfahren	—	24 „	Seymour-Jones
18		—	7 Tage	Hilgermann u. Marmann
19	Sublimat	2,7proz.	9 Tage	Ottolenghi
20	Formaldehyd (40 Proz.)	0,5—1proz.	6–14 Tage	Xylander
21	Aetzkalk	20proz.	> 1 Monat	Hilgermann u. Marmann
22	Phenol	5proz.	2—40 Tage	Schottelius, zit. nach Poppe, Kolle-Hetsch
23	Seymour-Jones-Verfahren	0,1—2proz. Ameisensäure	$2^1/_2$ Monate	Gegenbaur

fahren auf 24 Std. an (Nr. 17), während Hilgermann und Marmann eine solche von 7 Tagen (Nr. 18), und Gegenbaur eine solche von ca $2^1/_2$ Mon. (Nr. 23) ermittelten. Durch eine 5proz. Phenollösung wurden die Milzbrandsporen nach 2—40 (!) Tagen abgetötet (Nr. 22). Schon bei Laboratoriumsversuchen wurde also eine gleichmäßige Desinfektion nicht erreicht. Stammesverschiedenheiten, Versuchsanordnung, wechselnde Wirksamkeit der geprüften Präparate sind als Ursache dieser in weiten Grenzen schwankenden Ergebnisse anzusehen. Die in der Praxis oder mit infizierten Häuten durchgeführten Versuche ergeben das gleiche Bild.

Von der Häute verarbeitenden Industrie wurde die Behauptung aufgestellt, daß schon durch den Gerbprozeß eine Entkeimung der Häute stattfinde. Das ist sicher unzutreffend. Erstens erfolgt der Zusatz der einzelnen Chemikalien zu den Gerbflüssigkeiten meistens ungleichmäßig. Die Arbeiter haben es im „Griff", wieviel von den Gerbechemikalien (Kalk, Schwefelnatrium usw.) dem Aescher oder den Gerbflüssigkeiten zugesetzt werden muß (Gärtner und Dammann). Der Aufenthalt der Häute in den einzelnen Bädern schwankt überdies erheblich. Hilgermann und Marmann stellten in groß angelegten Versuchen fest, daß in keinem Falle durch den Gerbprozeß auch bei günstigsten Bedingungen eine Abtötung von Milzbrandkeimen innerhalb der in Betracht kommenden Zeiten erfolgte. In vollem Einklang damit steht die häufig beobachtete Tatsache, daß auch durch fertig gegerbtes Leder Milzbrandinfektionen erfolgen können (Burkhardt und Giulini, Holtzmann, Griglio).

Bei den von Seymour-Jones mitgeteilten Verfahren soll eine genügende Desinfektion durch 24stündiges Einlegen der Häute und Felle in eine 0,02proz. Sublimat = 1proz. Ameisensäurelösung mit anschließendem Bad in einer konzentrierten Kochsalzlösung erreicht werden. Bestätigt wurden die guten Ergebnisse von Seymour-Jones durch Schnürer und Moegle, die bei vollständiger Desinfektion keine Beeinträchtigung der Lederqualität feststellten. Den Ergebnissen dieser Autoren stehen aber die Erfahrungen von Abt, Eurich, Gegenbaur, Gegenbaur und Reichel, Hilgermann, Sevzik, Tilley entgegen, nach denen oft eine weitgehende Schädigung des Leders, oft eine durchaus ungenügende Abtötung und oft beides zusammen zu verzeichnen war.

Schattenfroh benutzte als Desinfektionsmittel eine Pickelflüssigkeit, die 2 Proz. Salzsäure und 10 Proz. Kochsalz enthielt. Nach Gegenbaur und Reichel, Moegle, Tilley wurde hiermit eine gute Abtötung erzielt; Abt und besonders Hailer, Hilgermann und Marmann bestätigen die gute Desinfektionswirkung, halten aber das Verfahren nach eigenen und Gerbereiversuchen für praktisch unbrauchbar, da die Felle die Haltbarkeit vollkommen verloren hatten. Sevzik konnte mit der Schattenfrohschen Methode Schaffelle auch nach 7tägiger Einwirkung nicht frei von Milzbrandkeimen machen.

Hailer empfahl ein $^1/_2$proz. Natronlauge- und 5—10proz. Kochsalzgemisch. Hailer drückt sich jedoch sowohl hinsichtlich seines eigenen wie des Schattenfrohschen Verfahrens sehr vorsichtig aus: Hailer erzielte eine Abtötung in „fast" allen Fällen, doch lassen sich nach diesem Autor bestimmte Fristen, innerhalb deren die Abtötung mit Sicherheit erzielt wird, nicht angeben. Es lassen sich nur Mittelwerte aus den erzielten Ergebnissen ableiten, in denen „in der Mehrzahl

der Fälle eine Abtötung erreicht wird". Häufig fanden sich in vereinzelten Hautstücken noch Sporen, doch sind das nach Hailer Ausnahmebefunde, mit denen bei der Desinfektion stets zu rechnen ist.

Es mögen noch Erwägung finden die in Amerika vorgeschriebene Sublimatdesinfektion (Poppe), die von Abt (Frankreich) empfohlene Chlordesinfektion, die Formaldehyddesinfektion (Xylander, v. Esmarch), Begünstigung des Auswachsens der Sporen und Verhinderung der Sporenneubildung durch Aufenthalt der Häute im Wasser bei 43—44° (Brekle), die Fluorwasserstoffdesinfektion (Gorini, Griglio) sowie das Ara-Aescherverfahren (Bürger und Nehring). All diese genannten Verfahren haben in der Praxis mehr oder weniger versagt. Zum Teil ist überdies der Kostenaufwand so bedeutend, daß er von der Industrie nicht getragen werden kann (Borgmann, Brezina, Bürger und Nehring, Gärtner und Dammann). So berechneten Reichel und Gegenbaur, daß die Desinfektion von 1 kg (!) trockener Felle nach dem Schattenfrohschen Verfahren nur an Kosten für das Desinfektionsmittel 79 Heller erforderten. (Eine Trockenhaut wiegt etwa 10—15 kg!)

Nach Bürger und Nehring, Eurich, Glynn und Lewis, Hewlett, Hilgermann, Koelsch, Legge, Page, Weller gibt es zurzeit keine Möglichkeit, durch flüssige Desinfektionsmittel Milzbrandkeime in Häuten abzutöten, ohne gleichzeitig auch das Leder zu schädigen. Nur durch ein Einfuhrverbot für milzbrandinfizierte Häute kann also die erhebliche Gefährdung der in den Gerbereibetrieben beschäftigten Personen vermieden werden, da auch entsprechende Vorsichtsmaßregeln (Min.-Verordnung vom 20. 12. 1910, Kobrak, Koelsch, Laubenheimer, Weller) nur zu oft versagen.

Selbst wenn jedoch durch geeignete Maßnahmen die Gefahr für das Leben der Arbeiter eingeschränkt werden könnte, würden die bei der Häuteverarbeitung entstehenden Abfälle und Abwässer weiterhin den Milzbrand unter dem Viehbestande in der Umgebung und im Unterlauf der Flußgebiete der Gerbereien verbreiten (Gärtner und Dammann, Francke und Standfuß, Gorini, Houston, Müssemeier).

Die Frage der unschädlichen Beseitigung der in flüssigen und festen Gerbereiabgängen enthaltenen Milzbrandkeime hat daher eine erhebliche praktische Bedeutung. Im Großen angewandt wurden bisher zu diesem Zwecke Rieselfelder und neuerdings (1921) Bodenfilter. Abel hat sich in einem ausführlichen Gutachten gegen die Anwendung der Rieselfelder zu diesem Zwecke ausgesprochen, weil durch dieses Verfahren eine Zurückhaltung der Keime nicht gewährleistet sei. Ueber die Wirkung der Bodenfilter wurde von Bürger und Nehring berichtet, die diese Filter in Neumünster in Schleswig einer eingehenden Prüfung unterzogen. Trotz des günstigen Urteils, das die Verfasser über diese Art der Gerbereiabwässerbehandlung fällen, kann es bei kritischer Prüfung der von diesen Autoren angestellten Versuche keinem Zweifel unterliegen, daß eine Beseitigung der Milzbrandkeime durch dieses Verfahren nicht erfolgt. Selbst angenommen, daß die von den Verfassern erwartete Zurückhaltung der Milzbrandkeime in den 30 m breiten, die Klärbecken umgebenden Schutzgürteln auch bei jahrelangem Gebrauche sich bewahrheitet, so bleibt doch bei dieser Art der Klärung noch der

aus den Absitzbecken von Zeit zu Zeit abzunehmende, stark milzbrandkeimhaltige Schlamm übrig, dessen Desinfektion unerläßlich ist. Nach dem Vorschlage von Bürger und Nehring soll dieser unter Zusatz von Aetzkalk kompostiert und dadurch unschädlich gemacht werden. Bürger und Nehring stützen sich hierbei auf die anschließend besprochenen Versuche von Hilgermann und Marmann.

Foth und Schubert stellen fest, daß zur Desinfektion von milzbrandsporenhaltigen Abdeckereiabwässern eine 3proz. H_2SO_4-Lösung genügt, Winterberger empfahl einen 2proz. Chlorkalkzusatz. Die gute Wirkung des Chlorkalkes wurde von Hilgermann und Marmann bestätigt; diese Autoren wiesen jedoch, ebenso wie Borgmann auf den außerordentlich hohen Preis einer Chlorkalkdesinfektion hin. Eine mittlere Gerberei würde täglich zur Desinfektion von ca. 100 cbm Abwässern 1250 M. für Desinfektionskosten auszugeben haben (berechnet unter Zugrundelegung des Friedenspreises). Hilgermann und Marmann empfahlen zur Desinfektion von Gerbereischlamm und -abwässern einen Aetzkalkzusatz. Da Aetzkalk billig ist und im Gerbereibetriebe ohnedies beim Aeschern Verwendung findet, hätte das Verfahren den Vorzug der praktischen Durchführbarkeit für sich. Indes klafft in den Untersuchungen von Hilgermann und Marmann eine erhebliche Lücke: Diese Autoren prüften die Lebensdauer der an Leinwandläppchen angetrockneten Milzbrandsporen nur in Kalkmilch. In einer 30proz. Kalkmilch waren die Keime nach 12 Tagen noch lebensfähig, nach 30 Tagen jedoch restlos abgetötet. Das Ergebnis ihrer Laboratoriumsversuche übertragen Hilgermann und Marmann nun auf die Verhältnisse der Praxis, nachdem bei einigen Probeuntersuchungen von Gerbereikalkschlamm keine Milzbrandbazillen nachgewiesen werden konnten: „Man kann daher annehmen, daß auch in den (sc. Gerbereischlamm-) Komposthaufen die Milzbrandsporen absterben, wenn sie eine genügend lange Zeit mit dem (sc. Kalk-) Schlamm in Berührung sind und dieser Schlamm einen genügenden Gehalt an Aetzkalk aufweist", und „es wird nicht schwer fallen, durch einen geringen Zusatz von $Ca(OH)_2$, der ja in dem Aescherschlamm in großer Menge zur Verfügung steht, und durch Festsetzung einer bestimmten Zeit, innerhalb deren die Komposthaufen nicht berührt werden dürfen, Infektionen zu vermeiden. Man braucht nur behördlicherseits, etwa im Wege einer Polizeiverordnung, vorzuschreiben, daß die Komposthaufen einen Mindestgehalt von ca. 20 Proz. Aetzkalk haben müssen, wovon man sich ja durch Stichproben jederzeit überzeugen kann, und daß sie vor der Verwendung als Dünger mindestens 3 Monate gelagert haben müssen, womit dann sämtliche Gefahr für Weiterverschleppung des Milzbrandes durch die festen Abgänge beseitigt wäre".

Hilgermann und Marmann schlossen also von der Desinfektionsprüfung im Laboratoriumsversuch auf die Anwendbarkeit des geprüften Mittels in der Praxis, ein Vorgehen, das in mehr als einer Hinsicht bedenklich erscheint (Reichel). Ein gutes Ergebnis der ersteren ist Vorbedingung für die praktische Anwendung, besagt aber über die praktische Brauchbarkeit noch nichts, da hier noch eine ganze Anzahl anderer, zum Teil gar nicht ohne weiteres übersehbarer Verhältnisse mitspielen. Beide Versuche sind streng voneinander zu trennen (Reichel). Zur Klarstellung dieser Verhältnisse wurde ich von Herrn Oberregierungs- und -veterinärrat Dr. Francke mit einer eingehenden Prüfung der Desinfektionswirkung von Aetzkalk auf

Milzbrandsporen unter Berücksichtigung praktischer Verhältnisse beauftragt.

Versuche.

Nur die Prüfung einer großen Anzahl von Milzbrandstämmen ergibt einwandfreie Ergebnisse (Hilgermann und Marmann, Poppe). Es wurden insgesamt 55 Stämme verschiedener Herkunft (Indien, Argentinien, Afrika, Deutschland) geprüft (Tab. II).

2tägige Agarkulturen, die gut versport waren, wurden mit 10 ccm steriler Kochsalzlösung abgeschwemmt. Diese Abschwemmung wurde mit Glasperlen kräftig geschüttelt und durch eine dünne Lage Asbestwolle filtriert, danach wurden hiermit sterile 1 cm lange in Petri-Schalen liegende Zwirnfäden (Ramiezwirn v. Hauptner, Stärke 6) übergossen und, um ein „Durchwachsen" zu gewährleisten, für 3 bis 4 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Abschwemmungsflüssigkeit abgegossen und die Fäden bei leicht aufgehobenem Deckel der Schale im Zimmer bis zum nächsten Tage getrocknet. Bei der mikroskopischen Prüfung von Fadenabschwemmungen waren nur selten Milzbrandbazillen, wohl aber stets Sporen in großer Anzahl nachweisbar.

Diese Fäden fanden zu den Desinfektionsprüfungen Verwendung, auch wurde mit ihnen die Widerstandsfähigkeit der betreffenden Stämme gegen Siedehitze (Aufenthalt in kochendem Wasser) geprüft.

Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze.

Bei der Prüfung gegenüber der Einwirkung von Siedehitze, wie sie von Hilgermann und Marmann für jeden Milzbrandsporenversuch gefordert wird, wurden die Fäden in mit etwa 10 ccm Kochsalzlösung gefüllte Reagenzgläser eingelegt und diese Gläser in ein Wasserbad von 100° C gestellt. Nach je 1 Min. wurden alle Röhrchen aus dem Wasserbade herausgenommen, und je ein Faden aus jedem Röhrchen in Bouillon gebracht. Da es sich jedesmal um 10 Röhrchen handelte, blieben die Fäden während der Dauer der Ueberimpfung von 10 Röhrchen in einer Temperatur, die nahe an 100° herankam. Die Widerstandsfähigkeit der Stämme liegt also möglicherweise etwas über den ermittelten Werten. Das Ergebnis ist in Tab. II niedergelegt.

Die Siedebeständigkeit der Sporen der verschiedenen Stämme schwankte zwischen 1 und 9 Min.

Eine	Widerstandsfähigkeit	von	1	Min.	wurde	2mal	ermittelt
„	„	„	2	„	„	9	„	„
„	„	„	3	„	„	15	„	„
„	„	„	4	„	„	14	„	„
„	„	„	5	„	„	7	„	„
„	„	„	6	„	„	4	„	„
„	„	„	7	„	„	3	„	„
„	„	„	9	„	„	1	„	„

Abtötung durch Kalkmilch (33proz.).

Es wurde die „dicke" Kalkmilch nach Anleitung A der Ausf.-Vorschr. d. B.-R. zum V.-S.-G. v. 7. 12. 11. „Anweisung für das Desinfektionsverfahren bei Viehseuchen" (Nevermann-Bayer) geprüft.

Tabelle II.

Sporenresistenz der geprüften Milzbrandstämme gegen Siedehitze.

Laufende Nr.	Stamm Nr.	Herkunft	Abtötungszeit nach Minuten 1 2 3 4 5 6 7 8 9
1	175	unbekannt	
2	176		
3	177		
4	178		
5	179		
6	180		
7	181		
8	182		
9	183		
10	184	Buenos-Aires	
11	185	„	
12	186	„	
13	187	Argentinien	
14	188	Montevideo	
15	189	Buenos-Aires	
16	190	„	
17	191	Montevideo	
18	192	Buenos-Aires	
19	193	„	
20	194	„	
21	200	Afrika	
22	201	Amerika	
23	202	Afrika	
24	203	Amerika	
25	212	„	
26	213	Afrika	
27	214	Litauen	
28	215	„	
29	216	„	
30	217	Amerika	
31	218	„	
32	219	Afrika	
33	220	Amerika	
34	221	Litauen	
35	222	Amerika	
36	223	Indien	
37	224	„	
38	225	Amerika	
39	226	Afrika	
40	227	Ostindien	
41	228	Europa	
42	229	Afrika	
43	230	Amerika	
44	231	„	
45	232	Afrika	
46	233	Ostindien	
47	234	Kurland	
48	235	Afrika	
49	236	Ostindien	
50	237	Agra (Indien)	
51	238	„	
52	239	„	
53	240	„	
54	241	Polen	
55	242	Agra (Indien)	

Zur Herstellung der Kalkmilch wurden zu einem Teil frisch gelöschten Kalkes allmählich unter stetem Umrühren 2 Teile Leitungswasser hinzugesetzt. Nach kräftigem Umschütteln wurden etwa 20 ccm dieser Kalkaufschwemmung in kleine Doppelschalen gefüllt und in diese Schalen die Prüfungsfäden mit keimfreier Pinzette gelegt.

Von einer Verwendung andersprozentiger Kalkmilch sah ich ab, weil die Aufschwemmung nicht gleichmäßig verteilt blieb. Bereits nach kurzer Zeit senkte sich der Kalk zu Boden und bedeckte die Fäden vollkommen. Die obenstehende Flüssigkeit war fast klar, nach einigen Tagen bildete sich auf dieser Flüssigkeit eine zarte Haut von Kalziumkarbonat. Der zu Boden gesunkene Kalk blieb anscheinend unverändert, da der Luftzutritt durch das Kalziumkarbonat und das Wasser verhindert war. Die Fäden befanden sich also tatsächlich beinahe in 100prozentigem gelöschten Kalk. Hilgermann und Marmann verwandten bei ihren Versuchen verschiedene Konzentrationen und erzielten damit verschiedene Abtötungszeiten. Ich kann mir diese Ergebnisse nicht erklären. Entweder müssen die Fäden im Kalk oder im Wasser liegen. Bei der beschriebenen, auch von Hilgermann und Marmann gebrauchten Versuchsanordnung können sich die Testobjekte nicht in einer auch nur annähernd nach dem Prozentgehalt bestimmbaren Kalkaufschwemmung befinden. Um eine anhaltende gleichmäßige Verteilung des Kalkes im Wasser zu erreichen, müßte die Aufschwemmung dauernd geschüttelt oder umgerührt werden. Die im nächsten Abschnitt beschriebenen Versuche im reinen, frisch gelöschten Kalk, bei denen die Abtötungszeit nicht wesentlich kürzer war, bestätigten dies. Auch nach Gegenbaur ist die Wirkung der Kalkmilch unabhängig von ihrem Gehalt an ungelöstem Kalziumhydroxyd. Durch Erhöhung des Kalkgehaltes konnte Gegenbaur eine Verringerung der Abtötungszeit nicht erzielen. Die Wirkung einer 20prozentigen Kalkmilch war nicht besser als die einer 1prozentigen.

Die Fäden wurden im Anfang der Versuche alle 2 Tage, vom 10. Tage ab täglich in Fleischbrühe überimpft. Vorher wurden sie nacheinander durch etwa 10 mit keimfreier Kochsalzlösung gefüllte Schälchen zum Auswaschen der anhaftenden Kalkmilch durchgeführt, um eine Wachstumshemmung durch Einbringen größerer Mengen von Kalk in die Nährflüssigkeit zu vermeiden.

Das eintretende Wachstum war infolge des Auswachsens von Milzbrandflocken aus den Fäden deutlich erkennbar. Die Bouillon selbst blieb klar. Aus den Flocken wuchsen teilweise in ganz kennzeichnender Weise zarte, gekörnte „Koloniefäden“ nach oben. Für Abtötungsprüfungen an Milzbrandbazillen sind von Süpfle und Dengler Traubenzuckerserumbouillon und von Hailer und Reiter Weizenextraktagar als günstigste Nährböden empfohlen worden. Die Verwendung dieser Sondernährböden erübrigte sich bei meinen Versuchen, da sich die Einwirkung des Kalkes über Wochen erstreckte und aus diesem Grunde Fehlergrenzen von einigen Tagen, die mit diesen Nährböden möglicherweise ausgeschaltet werden konnten, belanglos waren.

Wenn am 3. Tage noch kein Wachstum eingetreten war, wurden die Fäden nach dem Vorgange von Hilgermann und Marmann in neue Nährflüssigkeit übertragen. Blieb das Wachstum aus, so wurden trotzdem bei der nächsten allgemeinen Entnahme auch aus den mit dem betreffenden Stamm beschickten Schälchen abermals Fäden in Nährflüssigkeit übertragen. Es zeigte sich dabei (in den Tabellen punktiert

bezeichnet), daß recht häufig mehrere Tage (bis zu 7 Tagen) das Wachstum ausbleiben konnte, um dann wieder einzusetzen. Die Ursache hierfür war nicht festzustellen. Zufälligkeiten machen sich also schon — ein bedeutsamer Hinweis auf praktische Verhältnisse — bei den doch ziemlich klar übersehbaren Bedingungen der Laboratoriumsversuche erheblich bemerkbar.

Im Anfang der Versuche wurden beim Ausbleiben von Wachstum in der Fleischbrühe die betreffenden Seidenfäden Mäusen unter die Haut geschoben. Die Versuche wurden jedoch abgebrochen, da sich herausstellte, daß der Tierversuch sehr oft ergebnislos verlief, trotzdem im Wachstumsversuch noch lebensfähige Keime nachzuweisen waren. Anscheinend hat es sich in diesen Fällen nur um vereinzelte Keime gehandelt, die zur Infektion nicht mehr ausreichten, jedoch in Fleischbrühe noch leicht zum Wachstum kamen. Diese Ergebnisse stimmen mit den von Reichel mitgeteilten Ergebnissen überein, während Lange feststellte, daß die Entwicklungshemmung der Milzbrandkeime durch Sublimat in der Regel zuerst im Wachstums- und danach im Tierversuch zutage tritt. Von manchen Sachbearbeitern (Hailer, Reichel u. a.) wird die Ansicht vertreten, daß eine im Tierversuch nachweisbare weitgehende Schädigung der Krankheitskeime für die Bedürfnisse der Praxis genüge. Dieser Auffassung kann nicht beigetreten werden; es muß vielmehr für die veterinärpolizeiliche Praxis nicht nur eine Abschwächung der Milzbrandkkeime, sondern eine völlige Abtötung angestrebt werden, da sonst die Möglichkeit, daß die abgeschwächten Keime ihre Virulenz und Vermehrungsfähigkeit wiedererlangen, durchaus gegeben ist.

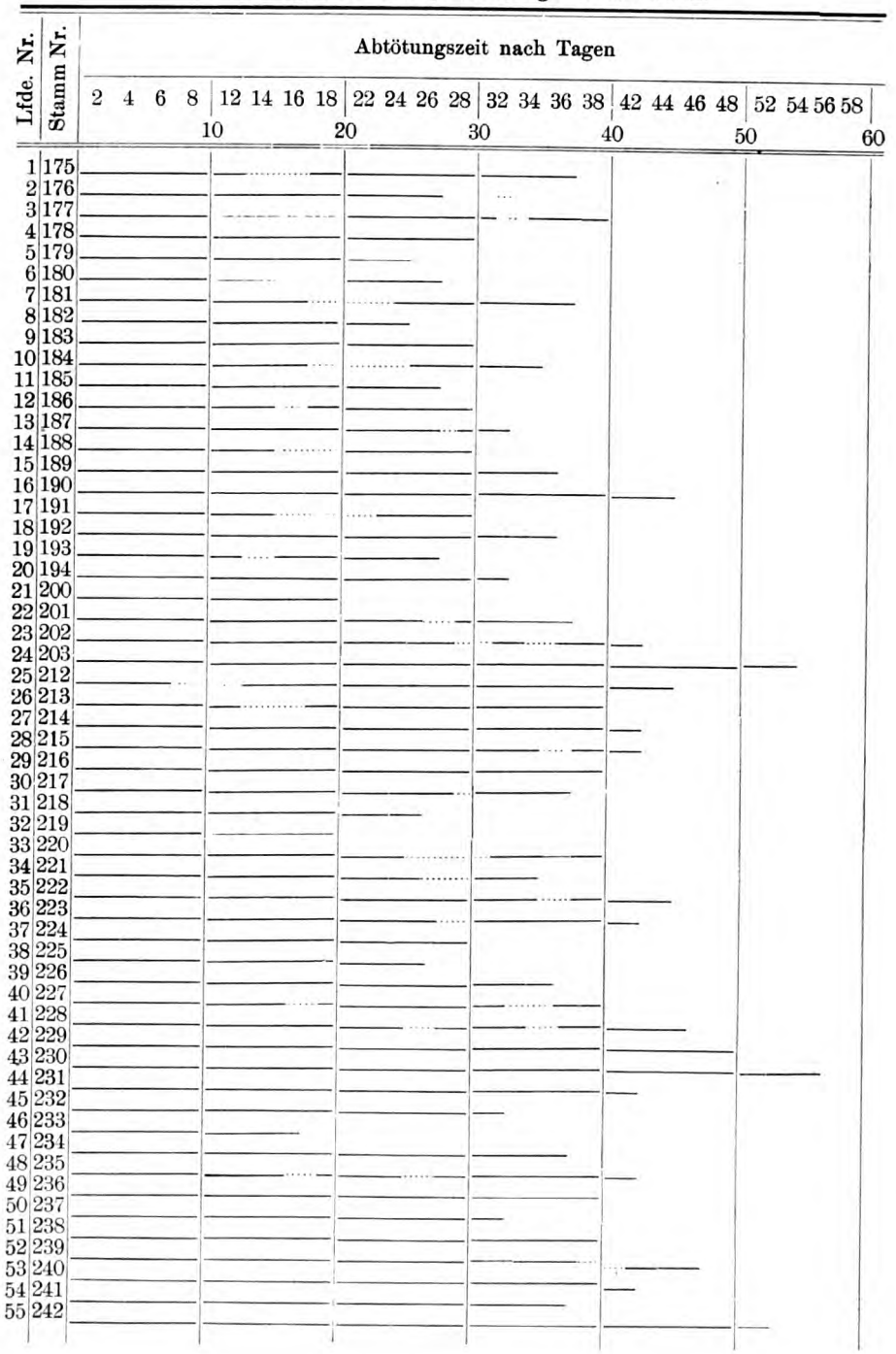
Die Widerstandsfähigkeit der Sporen der geprüften 55 Stämme gegenüber der Einwirkung der 33prozentigen (dicken) Kalkmilch schwankte zwischen 18 und 56 Tagen. Das Ergebnis wurde in Tab. III aufgezeichnet.

Eine	Resistenz	von	18	Tagen	wurde	1mal	festgestellt	
„	„	„	20	„	„	2	„	„
„	„	„	24	„	„	2	„	„
„	„	„	26	„	„	2	„	„
„	„	„	28	„	„	4	„	„
„	„	„	30	„	„	6	„	„
„	„	„	32	„	„	4	„	„
„	„	„	34	„	„	2	„	„
„	„	„	36	„	„	4	„	„
„	„	„	38	„	„	5	„	„
„	„	„	40	„	„	7	„	„
„	„	„	42	„	„	7	„	„
„	„	„	44	„	„	3	„	„
„	„	„	46	„	„	1	„	„
„	„	„	48	„	„	1	„	„
„	„	„	50	„	„	1	„	„
„	„	„	52	„	„	1	„	„
„	„	„	54	„	„	1	„	„
„	„	„	56	„	„	1	„	„

Die durchschnittliche Lebensdauer betrug demnach etwa 37 Tage. Die Abtötung ging also nicht so schnell vor sich wie bei den Versuchen von Hilgermann und Marmann.

Tabelle III.

Abtötung durch 33prozentige Kalkmilch.

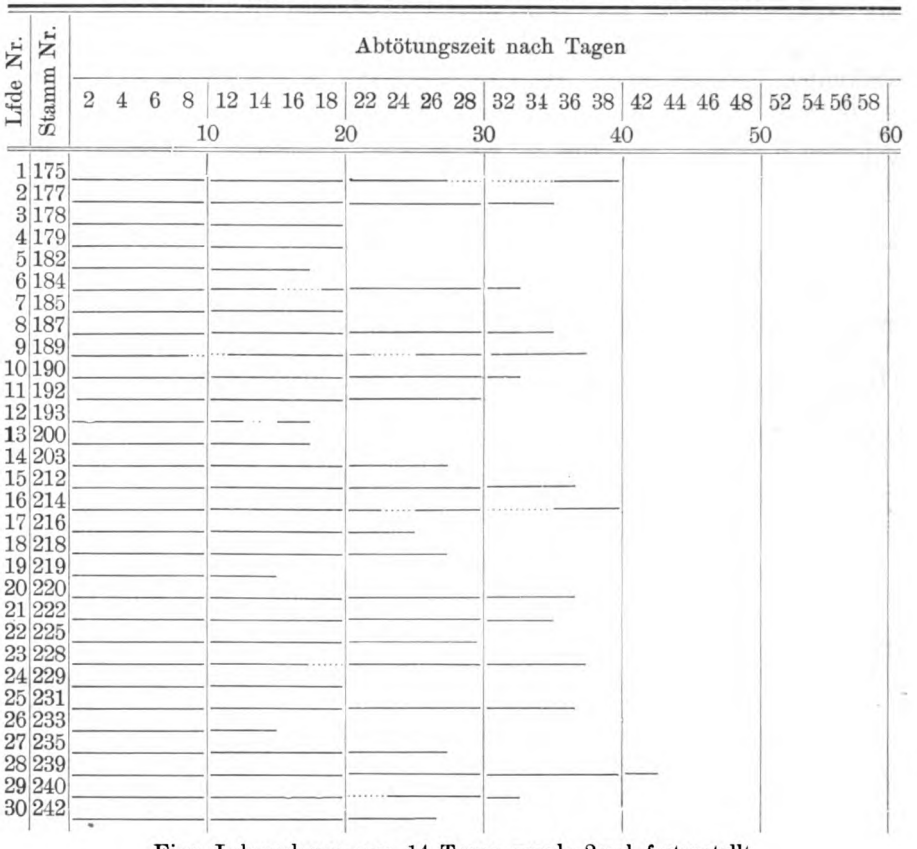


Abtötung durch unverdünnten frisch gelöschten Kalk.

Versuchsanordnung und Durchführung erfolgten wie bei Versuch 1. Es wurden nur 30 Stämme geprüft; und zwar zunächst alle Stämme, die im Versuch 2 hohe oder niedrige Abtötungswerte gezeigt hatten, außerdem aber noch ein Teil der Stämme mit mittlerer Lebensdauer. Das Ergebnis ist in Tab. IV niedergelegt.

Tabelle IV.

Abtötung durch unverdünnten gelöschten Kalk.



Eine	Lebensdauer	von	14	Tagen	wurde	2mal	festgestellt
„	„	„	16	„	„	1 „	„
„	„	„	18	„	„	2 „	„
„	„	„	20	„	„	4 „	„
„	„	„	24	„	„	1 „	„
„	„	„	26	„	„	2 „	„
„	„	„	28	„	„	2 „	„
„	„	„	30	„	„	2 „	„
„	„	„	32	„	„	3 „	„
„	„	„	34	„	„	3 „	„
„	„	„	36	„	„	3 „	„
„	„	„	38	„	„	2 „	„
„	„	„	40	„	„	1 „	„
„	„	„	42	„	„	1 „	„

Die durchschnittliche Lebensdauer betrug demnach etwa 27 Tage.

Abtötung in Kalk(ungelöscht)—Erde.

Hilgermann u. Marmann kamen, wie oben erwähnt, durch einen Analogieschluß zu der Annahme, daß die Milzbrandsporen in einem 20proz. Kalkkompost nach 3 Monaten abgetötet seien. Eine Nachprüfung dieser Frage schien jedoch, schon mit Rücksicht auf die lange Lebensdauer der Milzbrandkeime in reinem gelöschten Kalk, ein unbedingtes Erfordernis, um zu dem Vorschlag von Hilgermann und Marmann Stellung nehmen zu können.

Vorversuche.

Es wurden je 2 g feingesiebter Sand und ca. 6 ccm einer 33proz. Kalkmilch (so daß das Verhältnis von Sand und Kalk wie 1:3 war) in einem Röhrchen miteinander vermischt. Hierbei ergab sich die Tatsache, daß eine Mischung des Sandes mit dem Kalk nicht zu erzielen war. Der Sand sank zu Boden und scharf abgesetzt lag darüber der Kalk, über diesem stand das Wasser. Durch Umschütteln und Rühren war eine dauernde gleichmäßige Verteilung nicht zu erzielen. Nach dem Aufhören der Bewegung blieb stets der Kalk oben und wurde abgefiltert. (Beim Mischen von ungelöschtem Kalk und Sand und nachträglichem Löschen trat das Gleiche, wenn auch erst im Verlaufe einiger Stunden und bei einer genügend großen Menge Wassers, auf.)

Wenn schon diese kleinen Mengen von Kalk und Sand nicht gemischt werden können, so ist eine Mischung im großen — ohne Beschränkung des Wassergehaltes — erst recht nicht zu erwarten. Stark sandige Abgänge können also durch Kalkzusatz — auch bei angenommener Desinfektionswirkung des Kalkes an sich — nicht entkeimt werden.

Für die weiteren Versuche fand keimfreie klar gesiebte Gartenerde Verwendung. Es wurden je 2 g Gartenerde und 1 g Kalziumoxyd gut gemischt, in Wachstumsröhrchen abgefüllt und 3mal im Hitzkasten sterilisiert. Hierzu wurden je 5 ccm einer gut versporten 48stündigen Agarabschwemmung zugesetzt und gründlich gemischt, die gleichmäßige Verteilung des Kalkes in der Erde war deutlich an der Graufärbung zu erkennen. Aus diesem Material wurden mit einem Platinspatel Proben entnommen und in Fleischbrühe gebracht. Als Kontrolle dienten 3 g in gleicher Weise mit einer Sporenaufschwemmung übergossener Erde. Der Nachweis der Milzbrandkeime war bei dieser Versuchsanordnung recht schwierig. Er gelang in manchen Fällen schon am 1. Tage nicht. Eine Abtötung war unter Berücksichtigung der Versuche in reiner Aetzkalklösung nicht anzunehmen, vielmehr war die Ursache in der Kalkmenge zu suchen, die beim Beimpfen von Fleischbrühe oder beim Anlegen von Plattenkulturen mit aus den Versuchsröhrchen in die Nährflüssigkeit übertragen wurde und sehr dicke Ausfällungen im Nährboden verursachte. Wahrscheinlich hat der Kalk den Nährboden im ungünstigen Sinne beeinflußt und ein Auswachsen der Sporen verhindert. Durch Ausschleudern des Prüfungsmaterials und Auswaschen des Kalkes konnten lebende Milzbrandkeime sowohl im Wachstums- wie Tierversuch nachgewiesen werden. Bei dieser Arbeitsweise war aber von vornherein mit Verunreinigungen und Fehlergebnissen zu rechnen — von der zeitraubenden Durchführung der großen Versuchsreihen zu schweigen. Daher fanden abermals mit Milzbrandkeimen durchwachsene Fäden zur

Prüfung Verwendung. Die Versuche wurden wieder in kleinen Doppelschalen vorgenommen. Die Fäden waren mit den gleichen Stämmen und der gleichen Abschwemmung wie im vorigen Versuch vorbehandelt.

Hauptversuche.

Ein Teil (4 g) ungelöschter Kalk und 2 Teile keimfreie Gartenerde wurden in Schälchen gründlich miteinander gemischt und keimfrei gemacht. Hiernach wurden die Sporenfäden hinzugefügt, die Mischung mit 8 ccm keimfreiem Leitungswasser getränkt und unter häufigem Umrühren der Kalk gelöscht. Es entstand eine merkbare Erwärmung, die Mischung wurde weißlich. Alle 10 Tage wurden unter Umrühren 5 ccm keimfreies Leitungswasser zugesetzt, da durch Verdunsten des Wassers die Feuchtigkeit in den Schälchen abnahm.

Die Weiterführung der Versuche erfolgte in der gleichen Weise, wie oben angegeben. Besondere Sorgfalt mußte dem Auswaschen der Fäden zugewandt werden, da der Kalk bei dieser Versuchsanordnung erheblich fester haftete als früher.

Zur Kontrolle wurden einige Fäden jedes Stammes in keimfreie angefeuchtete Gartenerde gelegt. Beim Absterben der Stämme in den Versuchsschälchen wurde aus diesen Kontrollen stets Wachstum erzielt. Häufig siedelten sich in den Kontrollschälchen Schimmelpilze an, das Auswachsen der Milzbrandbazillen aus den Fäden war jedoch stets einwandfrei festzustellen. Ein Hinweis auf das Wachstum nicht vorbehandelter Fäden ist der Uebersichtlichkeit halber in den Tabellen unterblieben.

Das Ergebnis dieses Versuches ist in Tab. V niedergelegt. Der Versuch wurde nach 75 Tagen abgebrochen, da feststand, daß nach dieser Zeit bei 18 von 30 Stämmen (= 64 Proz.) in einem 33prozentigen Kalkerdegemisch eine Abtötung der Keime noch nicht erzielt war.

Absterben	nach	58	Tagen	wurde	1mal	festgestellt	
„	„	62	„	„	1	„	„
„	„	64	„	„	3	„	„
„	„	66	„	„	3	„	„
„	„	68	„	„	1	„	„
„	„	70	„	„	1	„	„
„	„	72	„	„	2	„	„
Keine Wirkung	„	75	„	„	18	„	„

Gelöschte Kalk-Erde.

Um den Einwand zu entkräften, daß bei den eben wiedergegebenen Versuchen der Kalk möglicherweise nicht genügend gelöscht worden sei, wurde ein Parallelversuch mit gelöschtem Kalk angesetzt. Das Ergebnis entsprach dem des vorhergehenden Versuches. Die Lebensdauer wurde in Tab. V punktiert eingezeichnet. Demnach wurde bei 20 von 30 Stämmen nach 75 Tagen keine Abtötung der Milzbrandkeime erzielt.

Gerbereischlamm-Kalk.

Obwohl schon nach dem Ausgang dieser Versuche feststand, daß der Aetzkalk auf Milzbrandsporen nur sehr langsam abtötend wirkt, und seine Verwendung für die Entkeimung der Gerbereiabfälle so gut wie aussichtslos erschien, wurde ein Versuch, der den natürlichen Verhältnissen möglichst Rechnung tragen sollte, angesetzt:

Tabelle V.

Kalk — Erde.

Laufende Nr.	Stamm Nr.	Abtötungszeit nach Tagen
		2 4 6 8 | 12 14 16 18 | 22 24 26 28 | 32 34 36 38 | 42 44 46 48 | 52 54 56 58 | 62 64 66 68 | 72 74
		10 20 30 40 50 60 70
1	175	
2	177	
3	178	
4	179	
5	182	
6	184	
7	185	
8	187	
9	189	
10	190	
11	192	
12	193	
13	200	
14	203	
15	212	
16	214	
17	216	
18	218	
19	219	
20	220	
21	222	
22	225	
23	228	
24	229	
25	231	
26	233	
27	235	
28	239	
29	240	
30	242	

Aus einer Brandenburger Gerberei wurden Hautabfälle bezogen. Es handelte sich um eine ziemlich lockere, schmierige, säuerlich riechende Masse von grünlicher bis bräunlicher Farbe, die aus Bindegewebsteilen (Subkutis), Fett, Haaren, Schmutz usf. bestand, wie sie beim Reinigen, Schneiden und Enthaaren der Felle und Häute nach dem Aeschern anfällt. Infolgedessen war dieser „Gerbereischlamm" schon an sich stark mit Kalk durchsetzt. Trotzdem wurde zu 2 Gewichtsteilen dieser Masse noch 1 Gewichtsteil gelöschter Kalk zugesetzt. Mit diesem Gemenge wurden 3 Versuche durchgeführt: der erste in der gleichen Weise wie die früheren Versuche, d. h. in Schälchen, und weiterhin noch 2 „Topf"-Versuche. Hierbei wurden in Steinguttöpfe etwa je 4—5 Pfund des Gerbereischlammkalkgemisches gefüllt. In den ersten Topf wurden gebündelte Fäden von 4 verschiedenen Stämmen versenkt und nacheinander von jedem Bündel einige Fäden auf Wachstum geprüft. In den zweiten Topf wurde eine Abschwemmung von je einer Agarkultur vier verschiedener Stämme gegossen und gut vermischt. Von diesem Material wurden Platten gegossen.

Es erscheint wichtig, darauf hinzuweisen, daß bei derartigen Versuchen der Kulturversuch allein nichts entscheidet, wenn die angelegten Platten nicht nach der Bebrütung vollkommen keimfrei sind. In dem Gerbereischlamm, wie überhaupt in organischen Stoffen, finden sich außerordentlich häufig Pseudomilzbrandkeime, deren sichere Abgrenzung von echten Milzbrandkeimen auf kulturellem Wege nicht immer gelingt, hierfür ist der Tierversuch unerläßlich (Francke). Ich habe aus diesem Grunde von der Anlage von Plattenkulturen in diesen Versuchen überhaupt abgesehen und mich auf Tierversuche zur Prüfung der Lebensdauer der Milzbrandkeime beschränkt.

Alle 3 Versuche wurden nach Ablauf von 75 Tagen abgebrochen. Bei den Schälchenversuchen schienen nur 2 Stämme — 185 und 189 — abgestorben zu sein. Bei dem ersten Topfversuch wurde nach dieser Zeit noch bei allen 4 Stämmen das Vorhandensein vollvirulenter Milzbrandkeime nachgewiesen. Das Gleiche gelang aus dem Material des 2. Topfes. Das Ergebnis überrascht nicht, denn bei einer Mischung der infolge organischer Beimengungen viel Raum einnehmenden Gerbereiabfälle mit Kalk müssen naturgemäß die Zwischenräume zwischen den einzelnen Kalkteilchen ziemlich groß sein. Es erscheint ganz ausgeschlossen, daß dann jeder Milzbrandkeim mit Kalkteilchen in Berührung kommt, geschweige denn von ihnen umhüllt wird. Wahrscheinlich finden die Milzbrandkeime sogar in den organischen Bestandteilen der Abfälle einen recht guten Nährboden.

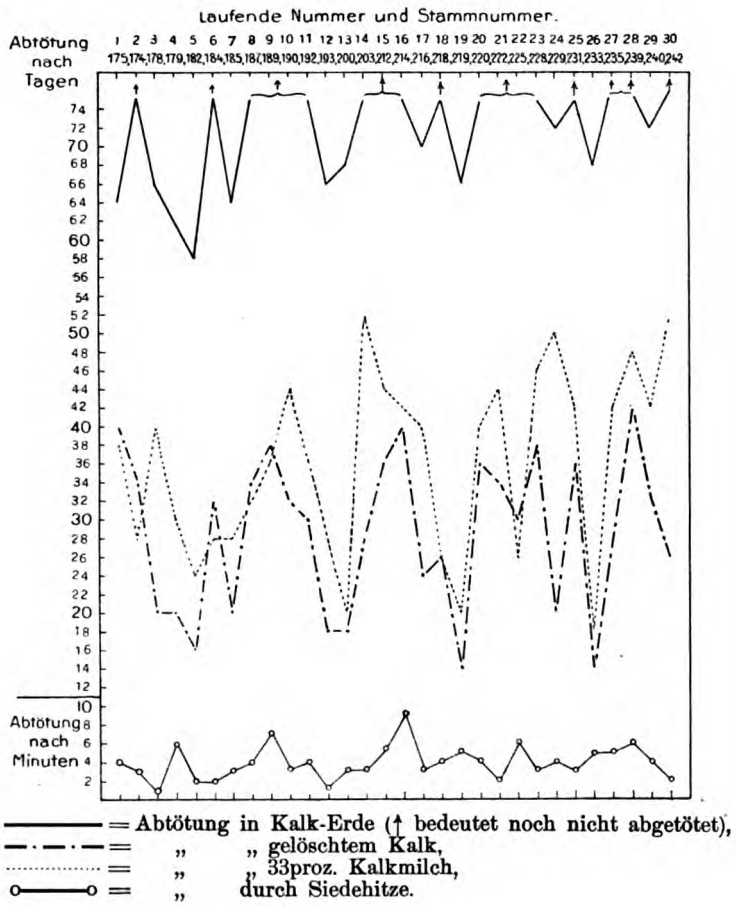
Zusammenfassende Betrachtung.

Aus Tabelle VI geht hervor, daß die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen gegen Siedehitze gelegentlich nicht unerheblich von der gegen Kalk verschieden ist[1]). Am auffälligsten ist dies bei den Stämmen 179, 219, 233, die trotz erheblicher Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze durch Kalkmilch verhältnismäßig schnell abgetötet werden. Die gleichen Unregelmäßigkeiten finden wir beim Vergleich

1) Die Darstellung durch Schwankungslinien in Tab. VI ist nur der Uebersichtlichkeit halber gewählt. In Wirklichkeit sind die auf einer Senkrechten untereinander liegenden Schnittpunkte miteinander zu vergleichen.

von Kalkversuchen miteinander. Dies kann meines Erachtens nicht, wie Poppe annimmt, ohne weiteres auf die Verschiedenheit der einzelnen Milzbrandstämme, die ohne Zweifel vorhanden ist, zurückgeführt werden. Vielmehr dürften bei der Abtötung der Milzbrandkeime unbestimmbare Zufälligkeiten ebenfalls eine nicht geringe Rolle spielen.

Tabelle VI.
Vergleich der Abtötungszeiten.



Darauf, daß des öfteren im Laufe der Prüfung für kürzere oder längere Zeit das Wachstum ausblieb, um dann später wieder einzusetzen, wurde schon vorn hingewiesen. Bei eingehender Betrachtung der Tabelle VI treten diese Zufälligkeiten ebenfalls deutlich zutage. Im allgemeinen sterben die Bakterien in reinem gelöschten Kalk schneller ab als in 33proz. Kalkmilch. Teilweise ist dieser Unterschied ganz beachtlich, so beträgt er z. B. bei dem Stamm 178 20, bei Stamm 203 24, bei 242 26 und bei 229 gar 30 Tage. Im Gegensatz dazu ging bei den

Stämmen 175, 174, 184, 187, 189, 225 die Abtötung durch 33proz. Kalkmilch schneller vor sich als durch reinen gelöschten Kalk. Von Wichtigkeit ist auch das Prüfungsergebnis bei Stamm 229 bezüglich der Kalkerdemischung im Vergleich zu der 33proz. Kalkmilch: Gegen letztere schien der betreffende Stamm ziemlich widerstandsfähig zu sein, während er durch die Kalkerde abgetötet wurde. Da eine im allgemeinen stärkere keimtötende Wirkung der Kalkmilch gegenüber dem dicken gelöschten Kalk, sowie der Kalkerde gegenüber Kalkmilch auf Grund der Ergebnisse bei den übrigen Stämmen nicht wohl angenommen werden kann, müßte man eine verschiedene Wirkung bei den verschiedenen Stämmen vermuten. Diese erscheint ebenfalls nicht wahrscheinlich, so daß als Erklärung nur die Annahme von Zufälligkeiten, die sich unserer Feststellung entziehen, übrigbleibt. Hilgermann und Marmann weisen darauf hin, daß „bei Verwendung derselben Testobjekte derselben Präparate und derselben Konzentration von Chlorkalk oft auffallend verschiedene Ergebnisse gezeitigt werden". Reichel und Gegenbaur machten die gleiche Beobachtung. Nach ihren Versuchen an 85 Stämmen in 118 Reihen ergaben sich Schwankungen nach oben und unten um ein Drittel des Mittelwertes bei einer schnellen Abtötung. Bei langsamer Abtötung, wie sie durch Kalkmilch vor sich geht, scheinen die Schwankungen, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, noch größer zu sein.

Unter den Verhältnissen der Praxis ist noch mehr mit solchen Unregelmäßigkeiten zu rechnen, da hier die chemischen und physikalischen Verhältnisse (Alkaleszenz, Salz-, Eiweiß- und Fettgehalt des zu entkeimenden Materials, Temperatur, Mischung, Feuchtigkeitsgehalt, Kohäsion und Adhäsion) noch weniger gleichmäßig zu gestalten und zu erhalten sind, als im Laboratoriumsversuch. Wie sehr dies der Fall ist, beweisen Mitteilungen von Laubenheimer, nach denen in einer Mannheimer Roßhaarspinnerei 3 Arbeiter fast gleichzeitig an Hautmilzbrand erkrankten (ein Fall endete tödlich). Die Ziegenhaare, von denen die Infektion ausging, hatten, wie mit Sicherheit feststand, den Dampfsterilisierungsprozeß regelrecht durchgemacht. Die aus den Haaren danach herausgezüchteten Milzbrandstämme zeigten keineswegs eine besonders hohe Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze.

Bei Beschreibung der Vorversuche wurde schon auf die Schwierigkeit einer gründlichen Mischung des Kalkes mit Sand hingewiesen. Diese gründliche Durchmischung und gleichmäßige Verteilung des Kalkes in dem zu entkeimenden, unter Umständen stark mit organischen Bestandteilen versetzten Schlamm mißlingt schon in kleinen Mengen und dürfte in der Praxis erst recht nicht zu erreichen sein. Ein gründliches Durchmengen ist aber Vorbedingung für die Einwirkung des Kalkes, sowie dafür, daß Zufälligkeiten möglichst ausgeschaltet werden. Wie dieses Durchmengen und Kompostieren im Großen bei Hunderten und Tausenden von Kubikmetern fester Abgänge in einwandfreier

Weise durchgeführt werden soll, darüber haben sich auch Hilgermann und Marmann nicht geäußert. Der Vorschlag von Borgmann Hilgermann und Marmann durch einen Kalkzusatz zu den Gerbereiabfällen eine Entkeimung dieser Abfälle zu erzielen, dürfte schon aus diesem Grunde eine praktische Bedeutung nicht erlangen; dazu kommt, daß nach meinen Versuchen die abtötende Wirkung des Aetzkalkes auf Milzbrandkeime in der Erde oder im Gerbereischlamm erheblich geringer ist, als von den obengenannten Autoren angenommen. Sogar in reinem Aetzkalk erfolgt die Abtötung der Milzbrandkeime langsam und schwankend, und in einer 33proz. Kalkerdemischung bleiben 64 Proz. der geprüften Milzbrandstämme länger als 75 Tage am Leben. Das Ergebnis meiner Versuche stimmt durchaus mit den von Gegenbaur neuerdings mitgeteilten Beobachtungen überein. In diesen Versuchen schwankte die Abtötungszeit von Milzbrandsporen dreier Stämme durch Kalkmilch zwischen 60 und 80 Tagen, bei einer Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze von 3 Minuten.

Die Kalkmilch ist in der „Anleitung für das Desinfektionsverfahren bei Viehseuchen" als Desinfektionsmittel angegeben und findet demgemäß auch bei Milzbrandfällen zu diesem Zwecke Verwendung. Auf Grund der angestellten Versuche erscheint es durchaus zweifelhaft, ob die Kalkmilch den an ein Desinfektionsmittel zu stellenden Anforderungen genügt, besonders wenn eine Desinfektion von Dünger und organischen Stoffen, sowie von Erde damit erzielt werden soll. Auch die Vorteile der Kalkmilch — billiger Preis, leichte Beschaffung, gute Kennzeichnung der ausgeführten Reinigung — können die mangelhafte keimtötende Wirkung nicht ausgleichen. Bei der Entkeimung durch Kalkmilch spielen Zufälligkeiten eine keineswegs zu unterschätzende Rolle. Der Grund hierfür dürfte in erster Linie darin zu suchen sein, daß sich der Kalk nicht in Wasser löst, sondern nur aufgeschwemmt wird und sich in kurzer Zeit zu Boden senkt. Deshalb ist auch eine gleichmäßige Mischung zwischen Kalk und festen Bestandteilen (Erde, Schlamm, organischen Abfällen usf.) nicht herzustellen.

Für die Desinfektionspraxis dürften sich chemische Lösungen, infolge der Durchtränkung und des Eindringens in das zu entkeimende Material, bei weitem besser eignen als physikalische Suspensionen von wasserunlöslichen Chemikalien, wozu die Kalkmilch zu rechnen ist.

Schrifttum.

1) Abel, Centralbl. f. Gewerbehyg. 1916. S. 1. — 2) Abt, Annales de l'Institut Pasteur. I. 28. 1914. p. 149. — 3) Borgmann, Schriften a. d. ges. Geb. d. Gewerbehyg. I. Springer, Berlin 1914. H. 4. — 4) Brekle, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. S. 101. — 5) Brezina, Seuchenbekämpfung. 1925. Jahrg. 11. S. 295. — 6) Bürger u. Nehring, Veröffentl. a. d. Geb. d. Med.-Verwaltung. Bd. 19. H. 10. — 7) Burkhardt, Giulini, Med.-Statist. Mitt. a. d. R.-G.-A. Ber.-Jahr 1912—1924. — 8) Dengler, Hyg. Rundsch. 1918. S. 1 u. 37. —

9) Esmarch, Festschr. z. 60. Geburtst. v. R. Koch. G. Fischer. Jena. 1923. — 10) Eurich, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 60. S. 257. — 11) Foth u. Schubert, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1914. S. 76. — 12) Friedberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 50. S. 472. — 13) Gärtner u. Dammann, Arb. a. d. R.-G.-A. Bd. 25. 1907. — 14) Gegenbaur, Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1918. S. 289. — 15) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. S. 188*. — 16) Glynn u. Lewis, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. S. 227. — 17) Gorini, Hyg. Rundsch. 1899. — 18) Griglio, Ebenda. 1897. — 19) Hailer, Arb. a. d. Reichs-Ges.-Amt. Bd. 47. S. 69. — 20) Ders., Ebenda. Bd. 50. 1915. S. 96. — 21) Hewlett, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 55. S. 121. — 22) Hilgermann u. Marmann, Arch. f. Hyg. Bd. 79. 1913. S. 168. — 23) Himmelstoß, Münch. tierärztl. Wochenschr. 1914. S. 561 u. 586. — 24) Holtzmann, Concordia. 1911. Nr. 13. S. 288. — 25) Kobrak, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1911. S. 157. — 26) Koelsch, Der Milzbrand usf. I. Voeller, München. 1908. — 27) Lange, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 105. 1925. S. 214. — 28) Laubenheimer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. 1912. S. 321. — 29) Legge, Münch. med. Wochenschr. 1915. S. 1113 (Ref.). — 30) Moegle, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. S. 492. — 31) Müssemeier, Francke, Standfuß, Schnauder, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. — 32) Nevermann-Baier, Viehseuchengesetze. — 33) Page, Journ. of Hyg. Vol. 9. 1919. p. 279. p. 359. — 34) Poppe, Weichardts Ergeb. Bd. 5. 1922. S. 610. — 35) Reichel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 50. Beiheft. — 36) Reichel, Kraus-Uhlenhuth, Handb. usw. Bd. 1. Berlin 1923. S. 462. — 37) Ders. u. Gegenbaur, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 61. S. 388. — 38) Dies., Arch. f. Hyg. Bd. 78. — 39) Dies., Zeitschr. f. öffentl. Ges.-Pflege. I. Jahrg. 31. 1913. S. 81. — 40) Reiter, Arch. f. Hyg. Bd. 89. 1920. S. 191. — 41) Schattenfroh, Wien. klin. Wochenschr. 1911. S. 735. — 42) Schnürer, Tierärztl. Centralbl. 1911. Nr. 29. — 43) Sevzik, Zeitschr. f. Inf. usw. d. Haust. Bd. 13. 1913. — 44) Süpfle, Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1918. S. 235. — 45) Tilley, Journ. of Agric. Research. Vol. 4. 1915. p. 65. — 46) Weller, Vierteljahrschr. f. ger. Mediz. u. öffentl. Sanitätsw. 3. Folge. Bd. 41. 1911. Suppl. H. S. 143. — 47) Wintersberger, Wien. tierärztl. Wochenschr. 1915. S. 353. — 48) Xylander, Arb. a. d. Reichs-Ges.-Amt. Bd 25. 1907. S. 416.

Nachdruck verboten.

Beitrag zum biochemischen Verhalten der bipolaren Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.

[Aus dem Tierseucheninstitut der Universität Leipzig (Dir.: Prof. Dr. A. Eber).]

Von Dr. **H. Frohböse.**

Während in der Literatur ausführliche und übereinstimmende Untersuchungsergebnisse über die Morphologie und über das Wachstum der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie auf den gewöhnlichen Nährböden (Agar, Serumagar, Gelatine, Bouillon) verzeichnet sind, finden sich nur wenige Angaben über das biochemische Verhalten dieser Bakteriengruppe in kohlehydrathaltigen Nährmedien. Andererseits stehen die in der Literatur verzeichneten Ergebnisse über die Fähigkeit der Indolbildung bei den bipolaren Bakterien in starkem Widerspruch zueinander.

Da die serologischen Untersuchungsmethoden zur Differenzierung dieser Bakteriengruppe nicht angewendet werden können, teilten Plasaj und Přibram (14—16) und Busson (4) auf Grund ihrer morpho-

logischen und biochemischen Untersuchungen, die an 20 Stämmen aus der Králschen Sammlung angestellt wurden, diese Bakteriengruppe je nach dem Gärvermögen, der Indolbildung und der Zahl der Geißeln in verschiedene Untergruppen.

Diese Einteilung hat nicht allgemeine Zustimmung gefunden. Da uns im Tierseucheninstitut der Universität Leipzig ein größeres Material von Stämmen aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie zur Verfügung stand, habe ich diese namentlich im Hinblick auf ihre biochemischen Eigenschaften untersucht und die gewonnenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren verglichen.

Von Plasaj und Přibram sowie Busson ist bereits eine Zusammenstellung der diesbezüglichen Literatur vorgenommen worden, so daß an dieser Stelle nur einige weitere Untersuchungsergebnisse nachzutragen sind:

Vourland (20) benutzte zu seinen Untersuchungen Lackmusagar, dem die verschiedenen Zuckerarten zu 1 Proz. zugesetzt waren, und stellte bei einem Geflügelcholerastamm nach 4tägiger Bebrütung Zersetzung der Dextrose, Saccharose und des Mannits fest.

Schirop (17) prüfte 3 Kälberstämme und stellte diesen je einen Schweineseuche- und Geflügelstamm gegenüber. In Dextrose, Galaktose, Saccharose, Sorbit und Mannit trat Säurebildung ein; ein Kälberstamm unterschied sich von den anderen dadurch, daß er Saccharose und Mannit nicht zersetzte. Arabinose, Maltose, Raffinose, Neutralrotagar, Lackmusmolke und Milch wurden von keinem Stamm verändert. Die Indolreaktion fiel positiv aus.

Der von Magnusson (12) aus einer Renntierepizootie isolierte Stamm säuerte Fruktose, Galaktose, Dextrose, Laktose, Saccharose, Mannit und Sorbit, desgleichen je ein zum Vergleich herangezogener Rinder- und Geflügelstamm. Arabinose, Xylose, Rhamnose, Maltose, Raffinose, Amylum, Dextrin, Inulin, Glyzerin, Erytrit, Adonit und Dulzit wurden von den 3 Varietäten des Bacterium bipolare septicum nicht angegriffen. Das Substrat war zuckerfreie Bouillon mit 0,5 Proz. der betreffenden Kohlehydrate. Als Kontrollen verwendete er wie Schirop (l. c.) Coli-Stämme mit bekannter Gärungsfähigkeit. Die Prüfung auf Säuerung geschah nach 4tägigem Wachstum bei 37 ° durch Zusatz von 4 Tropfen Lackmuslösung in jedes Röhrchen. Die Indolreaktion fiel mit Ehrlichs Reagens in den 10 Tage alten Bouillonkulturen nur bei dem Bacterium bipolare avisepticum positiv aus.

Besemer (2) beobachtete ein gleichmäßiges Verhalten bei 10 Stämmen aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie in ihrer biochemischen Tätigkeit.

Die von Laux (10) geprüften Stämme, und zwar 6 Geflügel- und 2 Schweinestämme, zeigten geringgradige Unterschiede in ihrem Säurebildungsvermögen in Mannit und Saccharose. Indol wurde von allen Stämmen gebildet.

Smith (19) untersuchte Stämme des Bacterium bipolare bovisepticum und fand, daß dieselben in der Dextrose- und Saccharosebouillon Säuerung hervorriefen, während die Laktose-Bouillon und Milch keine Veränderungen zeigten. Während die einen Stämme die Fähigkeit der Indolbildung besaßen, wurde sie bei den anderen vermißt.

Von Sieke (18) wurde bei 3 Hühnercholerastämmen und von Mikolics (12) bei 15 Stämmen der 6 Varietäten des Bacterium bipolare septicum der Nachweis der Indolerzeugung erbracht.

Bushnell und Beandette (3) geben in ihrer Arbeit „Laboratory Diagnosis of Poultry Diseases" die Indolbildung und die Gärfähigkeit des Bacterium bipolare avisepticum, des B. sanguinarium und des B. pullorum in der Dextrose-, Saccharose-, Maltose- und Laktose-Bouillon an. Mit Hilfe dieser Methode gelang ihnen eine Differenzierung der 3 Bakterienarten. Das Geflügelcholerabakterium spaltete Dextrose und Saccharose und bildete Indol.

Johnes (8) teilte 16 Stämme des Bacterium bipolare bovisepticum auf Grund ihres kulturellen und serologischen Verhaltens in 3 Gruppen ein. Für die Prüfung der Fermentation benutzte er Dextrose, Laktose, Saccharose, Maltose, Mannit und Salicin. In den Reagenzröhrchen, die zu 1 Proz. die verschiedenen

Kohlehydrate enthielten, wurde nach 7tägiger Bebrütung die Wasserstoffionenkonzentration bestimmt. Die 1. Gruppe umfaßte 8 Stämme, die kein Indol erzeugten, dagegen Säure aus Dextrose, Saccharose, Maltose und Mannit. Auf der Blutagarplatte trat Hämolyse ein. Die 2., 6 Stämme umfassende Gruppe spaltete nur Dextrose und Saccharose und bildete Indol. Die letzten beiden Stämme unterschieden sich von der 2. Gruppe durch die Fähigkeit, Mannit zu vergären.

Im Gegensatz zu Johnes konnten Fitsch und Nelson (6) durch die biochemische Tätigkeit von 28 Stämmen des Bacterium bovi-, sui-, ovi- und avisepticum keine Gruppen aufstellen. Alle Stämme zeigten ein durchaus gleichmäßiges Verhalten in den 7 Zuckerarten. Sie säuerten Dextrose, Saccharose und Mannit, während Laktose und Maltose nicht verändert wurden.

John und Patton (9) unterzogen 24 Geflügelstämme hinsichtlich ihres morphologischen und biochemischen Verhaltens einer eingehenden Prüfung. Dieselben bewirkten keine Hämolyse, bildeten Indol und zersetzten nicht Laktose und Maltose.

Csontos (5) prüfte die Ergebnisse der österreichischen Forscher nach, schloß aber von vornherein die alten Laboratoriumsstämme von seinen Untersuchungen aus. Von den gezüchteten Stämmen benutzte er nur diejenigen, die aus Kadavern mit typischen pathologisch-anatomischen Veränderungen der Geflügelcholera in Reinkultur wuchsen, die weder Arabinose noch Xylose noch Laktose zersetzten. Außerdem legte er besonderen Wert darauf, daß in dem mikroskopischen Bilde des Herzblutes nur typische Geflügelcholerabakterien zu finden waren. Er stellte fest, daß das typische Bacterium bipolare avisepticum aus Traubenzucker Gas nicht bildet, Milch nicht zur Gerinnung bringt, wohl aber die Fähigkeit der Indolbildung besitzt.

Die von mir untersuchten 50 Stämme des Bacterium bipolare septicum waren größtenteils im Laufe des Jahres 1925 aus den in das Tierseucheninstitut der Universität Leipzig zwecks Diagnosestellung eingesandten Kadavern gezüchtet, nämlich 44 Geflügelstämme (33 Hühner, 1 Pute, 1 Taube, 4 Gänse, 1 Schwan, 1 Ente, 1 Bekassine), 3 Katzen- und 3 Kaninchenstämme. Nur wenige Kulturen stammten aus früherer Zeit und waren, wenn das Wachstum derselben bei dem alle 4 Wochen vorgenommenen Weiterzüchten in Gelatine nachließ, durch Dazwischenschalten einer Schrägagarkultur oder durch eine Mauspassage aufgefrischt worden.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bestanden bei den einzelnen Geflügelarten in Blutungen unter den serösen Häuten, einer serofibrinösen Entzündung der Serosen, einer Lungen- und Darmentzündung, Leber- und Milzschwellung; die beiden letztgenannten Organe waren häufig mit kleinsten bis hanfkorngroßen gelblichen Herden durchsetzt.

Bei den 3 Kaninchen, die aus verschiedenen Seuchenausbrüchen stammten, war folgender Zerlegungsbefund erhoben: hämorrhagische Tracheitis und Enteritis sowie Milzschwellung. Der Vorbericht besagte, daß nicht nur Jungtiere, sondern selbst alte Zuchttiere der Seuche zum Opfer gefallen wären. Mikroskopisch wurde der Nachweis zahlreicher gramnegativer bipolarer Kurzstäbchen im Herzblut erbracht. Die Kultur konnte leicht durch Ausstreichen von Herzblut auf einer Agarplatte gewonnen werden. Die mit Herzblut subkutan infizierten Mäuse gingen innerhalb 2—3 Tagen ein; mikroskopisch und kulturell wurde der Erreger im Herzblut der Versuchsmäuse nachgewiesen.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen in den Organen der Katzen entsprachen nicht den bei der Septicaemia haemorrhagica erhobenen Befunden. Es waren Jungtiere bis zum Alter von $^3/_4$ Jahr, die an einer chronischen Erkrankung des Respirations- oder Digestionsapparates eingegangen waren und aus deren Organen neben anderen Bakterien die bipolaren isoliert worden waren. Zum Vergleich

wurden die drei Stämme mitherangezogen, obwohl dieselben in ätiologischer Beziehung nicht als die primäre Ursache bei der Erkrankung der Katzen angesehen werden können.

Die Züchtung der Stämme aus Herzblut und Milz auf der Agarplatte gelang bei allen Tierkadavern mit Ausnahme der zur Sektion eingelieferten Katzen leicht; von einer Beschreibung der Kolonien soll an dieser Stelle Abstand genommen werden. Nach 24 Std. gehen auf der Drigalski-Platte, worauf Hutyra (7) bereits hingewiesen hat, kleinste glashelle Kolonien auf, die den Farbenton des Nährbodens nicht verändern, jedoch selbst nach 2—3 Tagen den Lackmusfarbstoff in geringem Maße aufnehmen und Kleinstecknadelkopfgröße erreichen. Ein weiteres Fortzüchten auf diesem Nährboden gelingt nicht. Die Gassner-Platte hemmt vollständig das Wachstum, dagegen bildet die Blutagarplatte einen ausgezeichneten Nährboden. Hämolyse trat nie ein.

Für die Untersuchung der biochemischen Tätigkeit wurde Bouillon, der zu 1 Proz. die Monohexose Dextrose, die Pentosen Arabinose und Rhamnose, die Disaccharide Laktose, Maltose, Saccharose und der Alkohol Mannit zugesetzt waren, verwendet. Nach 6tägiger Bebrütung war Säuerung bei allen Stämmen nur in Dextrose, Saccharose und Mannit eingetreten. Gas wurde von keinem Stamme in den angeführten Kohlehydraten entwickelt.

Die weitere Prüfung erstreckte sich auf das Verhalten der 50 Stämme in der bunten Reihe, und zwar wurden Barsiekow-Traubenzucker, -Milchzucker, -Maltose und -Mannit angesetzt. Nur bei wenigen Stämmen trat ein ganz schwacher Umschlag nach Rot in Barsiekow-Traubenzucker und in der Mannit-Nutrose-Lösung ein. Lackmusmolke Kahlbaum und Neutralrotagar blieben stets unverändert.

Die Ehrlichsche Reaktion auf Indolbildung verlief nach 6tägiger Bebrütung, sofern ein gutes Wachstum der Bakterien in der Peptonlösung nach Witte stattgefunden hatte, stets positiv.

Bei der Betrachtung der nach der Methode von Zettnow ausgeführten Geißelfärbungen trat in den Ausstrichen die Eigenschaft der Kettenbildung einiger älterer Kulturen störend in Erscheinung. Nachdem jedoch mit diesen Stämmen eine Mauspassage vorgenommen worden war, überwogen in den mikroskopischen Präparaten die kurzen ovoiden Stäbchen, bei denen niemals Geißeln gesehen wurden.

Aus nebenstehender Zusammenstellung geht hervor, daß die Abweichungen bei den einzelnen Untersuchungen über die biochemische Tätigkeit nicht eine derartige Regelmäßigkeit aufweisen, daß eine Gruppeneinteilung der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie, wie sie Busson (l. c.), Plasaj und Přibram (l. c.) vorgenommen haben, als berechtigt erscheinen könnte.

Von keinem Untersucher ist Gasbildung oder Milchgerinnung beobachtet worden. Die abweichenden Untersuchungsergebnisse dürften in vielen Fällen auf die Verwendung alter Laboratoriumsstämme, zum Teil auch auf eine unterschiedliche Versuchsanordnung, zurückzuführen sein.

Im Gegensatz zu den älteren Literaturangaben, in denen die fehlende Indolbildung teilweise als eine Arteigenschaft der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie angeführt wird, heben die Verfasser der letzten Veröffentlichungen übereinstimmend die positive Indolbildung dieser Bakteriengruppe hervor.

Vergleichende Zusammenstellung der eigenen Untersuchungsergebnisse mit den in der Literatur niedergelegten.

		Anzahl der Stämme	Dextrose	Arabinose	Rhamnose	Laktose	Maltose	Saccharose	Mannit	Milch	Indol
Vourland	B. bipol. avisept.	1	+	—	—	—	–	+	+	.	.
Schirop	„ „ vitulisept.	2	+	—	.	.	—	+	+	—	+
	„ „ „	1	+	—	.	.	—	+	—	—	—
	„ „ suisept.	1	+	—	.	.	–	+	—	—	+
	„ „ avisept.	1	+	—	.	.	—	+	+	—	+
Magnusson	„ „ tarandisept.	1	+	—	—	+	—	+	+	—	—
	„ „ bovisept.	1	+	—	—	+	—	+	+	—	+
	„ „ avisept.	1	+	—	—	+	—	+	+	—	+
Besemer	—	10	+	+	.	—	—	+	+	.	.
Laux	„ „ avisept.	5	.	.	.	.	—	+	+	.	+
	„ „ „	1		.	.	.	—	—	—	.	+
	„ „ suisept.	1	.	.	.	.	—	+	—	.	+
	„ „ „	1	.	.	.	.	—	—	—	.	+
Smith	„ „ bovisept.	—	+	.	.	—	.	+	.	—	+ oder —
Bushnell	„ „ avisept.	—	+	.	.	—	—	+	.	.	+
Johnes	„ „ bovisept.	8	+	.	.	+	+	+	+	—	—
	„ „ „	6	+	.	.	—	—	+	—	—	+
	„ „ „	2	+	.	.	—	—	+	+	—	+
Fitsch	„ „ „	10	+	.	.	—	—	+	+	.	.
	„ „ suisept.	10	+	.	.	—	—	+	+	.	.
	„ „ ovisept.	2	+	.	.	—	—	+	+	.	.
	„ „ avisept.	6	+	.	.	—	—	+	+	.	.
John	„ „ „	24	+ oder —	.	.	—	—	+ oder —	.	—	+
Csontos	„ „ „	10	.	—	.	—	.	.	.	—	+
Eigene Untersuchungen	„ „ „	44	+	—	—	—	—	+	+	—	+
	„ „ cuniculisept.	3	+	—	—	—	—	+	+	—	+
	„ „ felisept.	3	+	—	—	—	—	+	+	—	+
	Paracholera	20	+	+	+	—	+	—	+	—	—

Anm.: + = Säuerung oder Indolbildung. — = keine Säuerung oder keine Indolbildung.

Andererseits stellten Beck und Huck (1) in ihrer Arbeit „Enzootische Erkrankungen von Truthühnern und Kanarienvögeln durch Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie (Paracholera)“ bei 5 Putenstämmen, bei 1 Kanarien- und 1 Taubenstamm die Unfähigkeit der Indolbildung fest. Dieser Befund ist inzwischen bei 15 neuen Paracholerastämmen ermittelt worden. Weiterhin zeigten auch diese Stämme in ihrem biochemischen Verhalten den Kohlehydraten gegenüber ein konstantes Verhalten, sie riefen Säuerung in der Dextrose-Arabinose-, Rhamnose-, Maltose- und Mannitbouillon hervor und unterscheiden sich dadurch in typischer Weise von den Geflügelcholera-

stämmen, die nur in der Dextrose-, Saccharose- und Mannitbouillon Säure bilden.

Die von Beck und Huck (l. c.) ermittelte Säuerung und Gerinnung in Barsiekow-Traubenzucker und in der Mannitlösung nach Hetsch und Säuerung und Schwebefällung in der nach Barsiekow angesetzten Maltoselösung ist neuerdings durch die Befunde von Lerche (11) bei 18 Paracholerastämmen, die aus Puten isoliert worden waren, bestätigt worden. Leider finden sich in der Arbeit von Lerche (l. c.) keine Angaben über Ausführung der Ehrlichschen Indolreaktion.

Inwieweit die Prüfung der biochemischen Tätigkeit eine Differenzierung und Einteilung in Untergruppen innerhalb der hämorrhagischen Septikämie, im besonderen bei den Erkrankungen unseres Geflügels gestattet, müssen weitere Untersuchungen ergeben. Festzuhalten ist an der Grundeigenschaft der Unbeweglichkeit der bipolaren Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.

Literaturverzeichnis.

1) Beck u. Huck, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 330. — 2) Besemer, zit. nach Johnes (8), John u. Patton (9). — 3) Bushnell u. Beaudette, Journal Amerc. Veterin. Med. Associat. Vol. 13. p. 729. — 4) Busson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. S. 101. — 5) Csontos, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 97. S. 178. — 6) Fitsch u. Nelson, Journal Americ. Veterin. Med. Associat. Vol. 16. p. 147. — 7) Hutyra, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann. 1913. S. 64. — 8) Johnes, Journal Amerc. Veterin. Med. Associat. Vol. 13. p. 270. — 9) John u. Patton, Ibid. Vol. 21. p. 549. — 10) Laux, Inaug.-Dissert. Berlin 1922. — 11) Lerche, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1926. S. 405. — 12) Magnusson, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 15. S. 61. — 13) Mikolics, Inaug.-Dissert. Budapest 1923. — 14) Plasaj u. Přibram, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. Beih. S. 113. — 15) Dies., Ebenda. S. 117. — 16) Dies., Ebenda. Bd. 87. S. 1. — 17) Schirop, Ebenda. Bd. 47. S. 307. — 18) Sieke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 94. S. 214. — 19) Smith, zit. nach Johnes (8). — 20) Vourland, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. S. 96 u. S. 193.

Nachdruck verboten.

Zur Biologie des B. fusiformis und der Spirochaete Vincenti.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Staatsinstituts für ärztliche Fortbildung (Prof. G. D. Belonowsky).]

Von **E. Rukawischnikoff.**

Die mikroskopische Untersuchung des Sekrets einer Plaut-Vincentschen Ulzeration ergibt das bekannte Bild der fuso-spirillären Symbiose. Charakteristisch für sie ist die Anwesenheit von spindelförmigen Bazillen und Spirochäten.

Der B. fusiformis wird beobachtet bald vollkommen intensiv, bald kaum sichtbar gefärbt, bald mit Polfärbung, körnig, von verschiedener Größe, gerade und gebogen, einzeln, zu zweien zusammenliegend, kettenartig, kreuzweise und in Rosetten gelagert. Es kommen

Gruppen von Stäbchen vor, die mit ihren Enden auf einen Punkt gerichtet sind, gleichsam einen Büschel bildend.

Die Spirochäten sind verschieden an Größe und Charakter der Windungen. Bei gut gelungener Giemsa-Färbung ist ihre körnige Struktur sichtbar, analog derjenigen des spindelförmigen Stäbchens. Man beobachtet Kugeln von Spirochäten, von welchen sich einzelne Individuen ablösen.

Das Studium der Ausstrichpräparate ergibt gleichzeitig den Befund von diplokokkenähnlichen Elementen, die ebenfalls verschiedene Größe und verschiedene Färbbarkeit aufweisen.

Außer den beschriebenen Elementen sehen wir eine ganze Reihe Uebergangsformen: so lenken die Aufmerksamkeit auf sich gewisse „Sammelformen" in Gestalt von Ketten diplokokkenartiger Elemente, welche nach Giemsa gefärbt von einer blauen Protoplasma- und einer rosa gefärbten Außenschicht umgeben sind. Die „Sammelformen" entfernen sich von den Vermehrungsherden, beginnen sich intensiv zu färben, verlieren allmählich ihre körnige Struktur und zerfallen durch Querteilung in dem B. fusiformis ähnliche Gebilde.

Dieser Prozeß kann besonders gut bei Pyorrhöe und chronischer Stomatitis beobachtet werden und läßt an die mögliche Entwicklung des B. fusiformis aus diplokokkenähnlichen Elementen denken, die wir als Primärelemente bezeichnen.

Man findet ferner lange gebuchtete Gebilde, ähnlich den bei der Hühnerspirillose beschriebenen und noch einige sehr feine Formen von „Sammelorganismen", welche Uebergangsformen zu Spirochäten darstellen könnten.

Man findet auch große Diplokokken und Diplobazillen, die aber gewöhnlich in geringer Anzahl zu sehen sind.

Die beschriebenen Formen der Mikroorganismen sind zwischen dem Zellgewebe und dessen Zerfall eingelagert. Wir sehen hier Leukozyten und Monozyten mit an den Rand gedrängtem Kern und von Mikroorganismen angefülltem Protoplasma; auch Epithelzellenkerne, welche das Bild einer Zerstörung ihrer Hülle und Befreiung der in ihnen eingeschlossenen Parasiten darstellen.

Außer den gewöhnlichen Mono- und Polynuklearen lenken die Aufmerksamkeit auf sich kernlose Gebilde verschiedener Größe, welche sich nach Giemsa rosa färben. Ihre Natur ist unbekannt, doch im Momente ihrer Zerstörung ergeben gut fixierte Gebilde in ihnen die Anwesenheit von jungen Mikroorganismen, was für die Möglichkeit einer parallelen parasitären Entwicklung der Elemente der Plaut-Vincentschen Infektion in Zysten, Monozyten, Leukozyten und Kernen der Epithelzellen spricht.

Die Vielgestaltigkeit des Parasiten läßt an die Existenz eines komplizierten Entwicklungszyklus denken. Zwecks Ausarbeitung dieser Frage wurde eine Reihe von Kulturen unter folgenden Umständen angelegt: der Nährboden sollte nach Möglichkeit ähnliche Eigenschaften besitzen, die beim natürlichen Wachstum der Mikroben im lebenden Gewebe des Menschen vorhanden sind. Deswegen wurden die Parasiten ins Blut des Kranken gesät, welchem Zerfallsprodukte aus der Ulzeration beigefügt wurden. Die Kulturen wurden in kleinen, mit eingeschliffenen Glasstöpseln versehenen Standgefäßen angelegt und bei

Zimmertemperatur gehalten. Als Ausgangsmaterial benutzte man das Ulzerationssekret, ferner das beim Abschaben der Zähne und Erosionen der Mundschleimhaut gewonnene Material in verschiedenen Fällen von Stomatitis, Gingivitis und Pyorrhoe mit positivem fuso-spirillärem Befund. Die Kulturen wurden möglichst täglich untersucht, die am meisten wertvollen Befunde abgezeichnet.

Die Resultate der Aussaaten brachten die Ueberzeugung, daß die Plaut-Vincentsche Infektion in ihrer Entwicklung eine bestimmte Reihe von Evolutionsformen ergibt.

In den ersten Tagen des Kulturlebens traf man zwischen den Blutkörperchen einzelne durch die Aussaat übertragene Mikroorganismen an. In den nächsten Tagen konnte man Vermehrungsherde in Gestalt von Anhäufungen der „Primärelemente" und von ihnen abgehende „Sammelformen" in Gestalt von Ketten diplokokkenähnlicher Elemente feststellen. Gleichzeitig konnte man auf demselben Präparate Gebilde in Gestalt von rosa gefärbten Kugeln beobachten, ferner mono- und polynukleäre, deren Protoplasma mit diplokokkenähnlichen Elementen vollgepropft war und das weitere Schicksal der befallenen Zellen — ihre Zerstörung und das Freiwerden der in ihnen enthaltenen Parasiten aufwiesen.

Die obengenannten kugelförmigen Gebilde, welche bald in Form kleinerer, zart gefärbter, bald größerer, intensiv gefärbter Elemente vorkamen, stellen Zysten vor, in denen sich junge Parasiten entwickeln. Gelungen fixierte Momente ihrer Zerstörung zeigen die Anwesenheit von fusiformen Stäbchen, Spirochäten und Primärformen. In einzelnen Fällen treffen wir Zysten, in denen nur Spirochäten, nur spindelförmige Stäbchen oder nur Primärelemente zu sehen sind, doch gibt es auch Zysten, in denen sich gleichzeitig alle Elemente entwickeln, was dafür spricht, daß die Vielgestaltigkeit allen Lebensphasen des Parasiten eigen ist.

Das Bild der sich in Zysten entwickelnden fusiformen Stäbchen und Spirochäten wird gewöhnlich ungefähr in den ersten 7—10 Tagen des Kulturlebens beobachtet und ist nicht mehr bei ihrem weiteren Studium zu sehen. Man könnte annehmen, daß das allmähliche Sinken der Vitalkräfte der Mikroben, welche in schlechtere Verhältnisse versetzt sind und die allmähliche Verschlechterung des Nährbodens infolge Zerfalls der Zellelemente eine Degeneration der Parasiten ergeben, welche sich in kleinen Formen der fusiformen Stäbchen und Spirochäten ausdrückt und im Auftreten von Dauerformen in Gestalt von kleinen, von einer schützenden Hülle umgebenen Zysten sich äußert.

Den Bildungsprozeß der Dauerformen kann man beim Studieren einiger Momente des Kulturlebens verfolgen. Die sich färbende Substanz des Stäbchens zieht sich zu dessen Enden hin, das Stäbchen wird bipolar, verkürzt und verdickt sich, die Enden runden sich ab, der B. fusiformis nimmt eine ovale Gestalt an, welche bei Querteilung eine Ähnlichkeit mit Diplokokken oder Diplobazillen aufweist. Ein analoger Prozeß kann an den Spirochäten beobachtet werden. Sie verdicken sich, scheinen angeschwollen, es treten Abschnürungen auf, die Spirochäten zerfallen in runde und ovale Gebilde verschiedener Form und Größe.

Die Dauerformen behalten die den höher entwickelten Formen der Infektion üblichen Besonderheiten: Vielgestaltigkeit, Querteilung und

Lagerung, wobei sie einzeln, paarweise, kreuzweise, rosettenförmig und in Ketten zu sehen sind. Je nach ihrer Entwicklungsphase nehmen sie verschieden die Färbung an, evolutionieren in größere Gebilde sich ausbildend, welche bei weiterer Entwicklung in kleinere Formen zerfallen. Bei der Reifung der Zysten wird die Hülle dünn und durchsichtig, was einen Einblick in ihren Inhalt gestattet.

Die in den Kulturen erhaltenen Zysten, „Schutz- und Dauerformen", erklären die Natur der zwischen den Infektionselementen vorhandenen großen Diplokokken und Diplobazillen. Ihre Aehnlichkeit mit den in den Kulturen erhaltenen, „Zysten" genannten Gebilden läßt annehmen, daß die Natur für Fälle von Gefahr, Schutz und Dauerformen bildet. Diese Annahme wird durch wiederholte Untersuchung des Ulzerations- und Erosionssekrets nach intravenöser Injektion von Neosalvarsan und äußerlicher Anwendung von desinfizierenden Mitteln bestätigt: die fusiformen Bazillen und Spirochäten verschwindegn, an ihrerstatt erscheinen die Primärelemente und Schutz und Dauerformen in Gestalt von großen Diplokokken und Diplobazillen ähnlichen Gebilden.

Bei weiterem Studium des Kulturlebens zeigten sich gleichzeitig alle Elemente der Infektion: Primärelemente, fusiforme Stäbchen, Spirochäten, Uebergangsformen und an Größe, Form und Färbbarkeit verschiedene Zysten-, Schutz- und Dauerformen mit zeitlichem Ueberwiegen einer Form über der anderen.

So ergab die Kultur des kranken P., welcher die Ambulanz für Hautkrankheiten am Staatsinstitut für ärztliche Fortbildung aufsuchte, und dessen Ulzerationssekret am 16. 4. ausgesät wurde, am 21. 4. die oben beschriebenen Vermehrungsherde in Form von Gruppen der Primärelemente, am 25. 4. Zysten mit sich in ihnen entwickelnden fusiformen Stäbchen und Spirochäten; vom 1. 5. an konnte man das allmähliche Anwachsen von Zysten-, Schutz- und Dauerformen beobachten bei gleichzeitiger Anwesenheit der übrigen Elemente. Am 24. 6. überwogen zarte körnige, kaum sichtbare fusiforme Stäbchen, am 27. 6. konnte man das Auftreten kleiner Spirochäten beobachten: sie befreien sich aus den runden, durchsichtigen Zysten in Form kleiner Kommata, welche sich, der Länge nach entwickelnd, 2—3 Windungen erhalten. Einige von ihnen sind spiralförmig eingerollt.

In dieser Gestalt erhielt sich die Kultur ungefähr einen Monat, wonach sie abzusterben anfing. Auf den Strichpräparaten zeigten sich Zerfall des Mediums und einzelne Mikroorganismen. Man konnte annehmen, daß der Nährboden erschöpft sei, aber die folgenden Untersuchungen ergaben eine Regeneration. Es erschienen kugelförmige Gebilde welche sich nach Giemsa grau-grün färbten. Den 20. 9. wurde an ihnen eine Ausstrahlung einer rosafarbenen Substanz bemerkt. Die Kugeln waren wie mit einem rosa Strahlenkranz umgeben, von einigen zogen sich Fäden rosagefärbter Substanz. Am 10. 10. ergab die Kultur den Zerfall der beschriebenen Kugeln, ferner Primärelemente und lange, rosa gefärbte Spirochäten, welche verschieden an Dicke und Intensität der Färbung waren. Einige von ihnen waren körnig und ihrem Bau nach den der Infektion eigenen „Sammelformen" ähnlich.

Ungefähr in derselben Reihenfolge verlief das Leben der Kulturen anderer Aussaate der Plaut-Vincentschen Infektion.

Gleichzeitig wurden eine Reihe von Ueberimpfungen vorgenommen.

Das Material der Ueberimpfung wurde in das aus der Vena Cubitalis entnommene Blut übertragen. Die Beobachtungen der überimpften Kulturen brachten wertvolle Ergebnisse, welche die beschriebenen Entwicklungsformen des Parasiten bestätigen: unabhängig von der Phase, in welcher sich die Ausgangskultur befand, kehrte der Zyklus wieder zu dem Ausgangspunkte zurück, zu den Primärelementen, welche in den ersten Tagen nach der Impfung Vermehrungsherde in Gestalt von Anhäufungen der diplokokkenähnlichen Elemente und nachfolgende Entwicklung von Uebergangsformen, B. fusiformis und Spirochäten bildeten.

Die Literatur bestätigt einige der hier angeführten Beobachtungen: Sammelformen sind bei Protisten als Kolonien, die aus einzelnen Individuen bestehen, beschrieben. Sie werden durch eine Substanz, welche in diesen Fällen aus dem Körper ausgestrahlt wird, vereinigt. Die Spirochäten, wie es von mehreren Forschern beobachtet wird, zerfallen durch Querteilung in eine Unzahl individueller Einzelheiten, die weiter als selbständige Organismen existieren können.. Infolge dieser Eigenschaft werden sie von Calkins (1) als Streptokolonien bezeichnet. Diese Meinung wird durch die Beobachtungen von Schaudin (2), Wechselmann und Löwenthal (3), Novy und Knapp (4), Kryczstalowiez und Siedlecki (5), Mühlens und Hartmann (8), Groß (17) unterstützt.

Die Anwesenheit von Schutz- und Dauerformen ist bei Protisten als eine Lebensphase bekannt, die während ungünstiger Lebensbedingungen auftritt. Die Mikroorganismen nehmen eine ovale oder kugelförmige Gestalt an und scheiden eine Substanz aus, die verhärtet und so einen Schutz gegen äußerliche Einwirkungen darstellt [Calkins (1)]. Schutz- und Dauerformen der Spirochäten sind von Perrin (6) für die Sp. Balbiani, Mühlens und Hartmann (8) für die Sp. dentium und buccalis, Prowazek für die Sp. gallinarum, Breinl and Kinghorn (9) für die Sp. duttoni beschrieben.

Knorr (10), Klinger (11), Rodella (12) beschrieben die große Vielgestaltigkeit des B. fusiformis und lange, gekernte Fäden, die sie gezüchtet haben; Fälle, in welchen diese Fäden gewellte, spirochätenartige Gestalt annehmen und so eine Uebergangsform von fusiformen Bazillen zu Spirochäten darstellen, sind von R. Tunnicliff (15), Shmamine (13), Knorr (10) beschrieben.

Mackie (14), Wechselmann und Löwenthal (3) beobachteten die Anwesenheit von fusiformen Stäbchen in Kulturen verschiedener Spirochäten — Refringens, Sp. pallida, Sp. Ziemanni.

Shmamine (13) weist darauf hin, daß der B. fusiformis in alten Kulturen allmählich verschwindet, und daß Spirochäten allein zurückbleiben.

Die Gegenwart von kokkenähnlichen Gebilden ist in den Arbeiten von Tunnicliff, Hoffmann (16), Mühlens und Hartmann (8), Prowazek (7), Groß (17) beschrieben.

Groß (17), Swellengrebel, Hoffmann (16) und andere Forscher haben die Agglutination und den körnigen Zerfall der Spirochäten beobachtet.

Ross, Donaugh (18) fanden kleine, im Blute von Luetikern zirkulierende kugelförmige Gebilde. Nach ihren Beobachtungen dringen

die Gebilde in Leukozyten, Epithelzellen und andere Gewebszellen ein und machen dort einen Zyklus ihrer weiteren Entwicklung durch.

Ross beschreibt Zellen, welche den Mastzellen ähnlich sind, sich doch von ihnen durch Kernlosigkeit unterscheiden. Sie sind mit jungen Parasiten vollgepfropft, platzen bei ihrem Reifen; die Parasiten werden zu weiterer Evolution frei.

Donaugh gibt die Beschreibung des Entwicklungszyklus des Erregers der Syphilis. Den Schwerpunkt der Infektion überträgt er auf kokkenähnliche, im Blut zirkulierende Körper; ihre weitere Entwicklung geschieht in Zysten und außerhalb von ihnen, als eine Art von Schizogonie und Sporogonie.

Auf Grund unserer Beobachtungen möchten wir zu folgenden Schlußfolgerungen kommen:

1) Als eine Spirochätose weist die Plaut-Vincentsche Infektion einen Entwicklungszyklus auf, der dem von Donaugh in bezug auf die Sp. pallida beschriebenen ähnlich ist. — 2) Die auf den Ausstrichpräparaten beobachteten diplokokkenähnlichen Elemente sind die Primärelemente der Infektion, mit denen der Entwicklungszyklus beginnt. — 3) Primärelemente, B. fusiformis, Spirochäten und körnige Sammelformen stellen verschiedene Stadien eines und desselben Mikroorganismus dar. — 4) Die Entwicklung der Parasiten geschieht parallel in Zysten und außerhalb derselben, indem sie gleichzeitig die Anwesenheit von verschiedenen Evolutionsphasen aufweist. — 5) Im Falle von gefahrdrohenden Einwirkungen erschafft die Natur Dauerschutzformen, welche den Zyklus des Parasiten erneuern können.

Literature.

1) Calkins, Protozoologie. — 2) Schaudinn, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 20. 1904. S. 387—439. — 3) Wechelmann und Löwenthal, 1. Zur Kenntnis der Sp. pallida. (Med. Klin. 1905. S. 838.); 2. Untersuchungen über die Schaudinn-Hoffmanschen Spirochäten. (Ibid. 1905. NN. 26. 33.) — 4) Novy and Knapp, Studies on Sp. Obermeieri and related Organisms. (Journ. Inf. Dis. Vol. 3. p. 291—393.) — 5) Kryszstalowiez et Siedlecki, Contribution à l'étude de la structure et du cycle evolutif de Sp. pall. (Bull. Acad. de Scienc. Crakovie. 1905. Novembre.) — 6) Perrin, Arch. f. Protistenkd. 1906. — 7) Prowazek, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 26. 1907. S. 1. — 8) Mühlens und Hartmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1906. S. 104. — 9) Breinl and Klinghorn, An Exper. study of the parasite of the Afrik. Tick-fever. Liverpool School of Tropic. Med. Memoir. Nr. XXI. 1908.) — 10) Knorr, Die fusospirilläre Symbiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922.) — 11) Klinger, Ebenda. Bd. 62. S. 186. — 12) Rodella, Arch. f. Hyg. Bd. 5. S. 329. — 13) Shmamine, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. S. 311. — 14) Mackie, Plaut-Vine. Angina and the Bac. fusiformis. (Lancet. N. 4271. 1905.) — 15) Tunnicliff, On the identy of fusif. Bac. and Spirill. (Journ. Inf. Dis. Vol. 2 1906; Vol. 3. 1906. H. 1; Vol. 8. 1911. p. 316.) — 16) Hoffmann, Zur Stellung der Spirochäten im System. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. H. 7.) — 17) Gross, Ueber Systematik, Struktur, Fortpflanzung der Spironemmaceen. (Ibid. Bd. 65. H. 2/3.) — 18) Donaugh, Derm. Wochenschr. Bd. 56. 1913. [1914]. Nr. 2; Biochem. Journ. Vol. 7. Nr. 5.

Nachdruck verboten.

Piroplasmosis (Babesiellosis, red water) of the cattle in the north-west of Russia.

[From the Protozoological Section of the Bacterio-veterinarian Institute in Petrograd. (Chef of the Section Prof. W. L. Yakimoff).]

By Prof. **W. L. Yakimoff**, M. D., D. M.-V., and others.

I.

The spreading of the Piroplasmosis of the cattle in Russia. Particularly in the North-West Region.

By Prof. **W. L. Yakimoff** and **W. Z. Khmelnitzky**, Vet.

One of the most frequent diseases of the cattle in Russia is the piroplasmosis (blood urine). This disease was known long ago, it has even been mentioned in the ancient Russian writings.

The geographic space, the spreading of this disease occupies is very great. As far as the official accounts show it is to be found in the north-west region: governments: Olonetz, Novgorod, Petrograd, Pskov and Tsherepovetz. From here the illness spreads, as a large zone, to the south-west, up to the frontiers of Poland and Roumenia.

Another zone spreads from the north Caucasus (governments of Stavropol and Tersky and Koubansky regions) to the south, beyond the Caucasus up to frontiers of Persia and Turkey. The third hearth of this disease is to be found in Turkestan, where it spreads to the north, to the region of stepps. It is only the extreme north and east parts of European Russia that are free from this disease. It is also to be found in the east of Siberia. In the frontier countries, separated from Russia, it exists in Finland (especially in the south), in Poland, in Estonia and in Bessarabia.

From these accounts it is to be seen that the piroplasmosis occupies a very large space of Russia.

If we consider now the statistic accounts of the amount of spots infected as well as the amount of diseased animals and those dead from this disease, we will see that their number is very high.

From the year 1881 till 1912 diseased 204, 476 and dead 65, 441 (31,9 %); medially a year diseased 6, 596 and dead 2, 101.

Table I gives us the amount of animals fallen ill and dead in European Russia (north and south Caucasus included) and beyond it, separately (from the year 1904 till 1912; sce Table I).

This table shows us that in general, the mortality coming from piroplasmosis gives a higher percentage in beyond European Russia (42,7%, medially 50,8 %), than in European Russia itself (14—20 %, medially 15 %). When comparing the extreme north to the extreme south of European Russia, we see that the mortality from piroplasmosis gives a higher percentage in the south. The percentage of mortality in the government of Stavropol up to 100 (Heronimus).

Tabelle I.
The piroplasmosis of the cattle in European Russia and beyond European Russia.

	Regions	Number of animals diseased.	Dead	Percent of mortality
General amount from 1904—1912	Russian Empire	74,979	17,847	23,2
	European Russia	56,457	8,469	15,0
	Beyond European Russia	19,008	9,675	50,8
Medially a year	Russian Empire	8,331	1,983	23,2
	European Russia	6,273	941	15,0
	Beyond European Russia	2,112	1,075	50,8

This high percentage in the south, depends without doubt, from the infector of the piroplasmosis which is different in the south and north.

From here one is ready to make the conclusion that the mortality from the north-west piroplasmosis gives a smaller percentage than that of the south. But this is not quite the case. The above given ciphers concern local cattle, which problably had already been diseased during its youth and therefore could better withstand the disease and give a smaller percentage of mortality. But the cattle newly arrived from places with no piroplasmosis fell ill very gravely and gave a higher percentage of mortality (up to 75 %).

The highest percentage of sickness in European Russia occurs in the summer (75 %), then comes spring (23 %) and autumn (2 %); winter gives the smallest percentage (0,69 %). The beyond European Russia (Caucasus and Turkestan) gives the highest percentage of sicknesses in the summer (83 %), then comes the autumn (11,36 %), then spring (5,5 %) and winter (0,06 %). That in European Russia the second place is occupied by spring, in beyond European Russia by autumn, depends from the biology of the different infectors—Ixodes ricinus in the north of Russia and Boophilus annulatus calcaratus—in Caucasus and Turkestan.

Let us consider now the north-west region. We have in our disposition, full acounts, only from two governments (of Petrograd and Novgorod). By the number of sicknesses the government of Petrograd occupies the first place (51,712), by the percentage of mortality — the second.

These ciphers seems to us, do not fully give the quantity of animals diseased and dead—they must be increased at least twice.

In regards to the sickness by seasons we have only the accounts (Matweieff) of one year coming from the government of Novgorod. The graphic shows that in January and April the cases were single, then the amount rapidly rises until June, the quantity of cases falls in July. After this month only single cases are noted.

The accounts of Yakimoff received in the estate „Kostroni" and those in the district of Lodeinoie-Polle show that in Kostroni 75 % of the disease was in June, in Lodeinoe-Polle either in July (1919, 1920, 1925) or in June (1921 and 1922).

Table II shows us which place the piroplasmosis occupies amongst other infections diseases of the gov. of Petrograd (from 1881—1913).

Tabelle II.

The infection diseases in the government of Petrograd from 1881 till 1913.

	Number of animals diseased by the infection diseases										
	Total	Aphtha epizootic.	Piroplasmosis	Anthrax	Influence	Glanders	Looseness	Peripneumonie	Rage	Itch	Other diseases
General amount											
Fell ill	270 152	152 226	51 712	16 884	9 968	5 172	5 929	2 485	1 286	10 034	14 456
Died	41 656	969	8 218	14 192	698	5 172	105	2 485	1 286	67	8 464
% of mortality	15,4	0,6	15,89	83,99	7,0	100	1,67	100	100	0,66	58,54
Medially a year											
Fell ill	8 186	4 612	1 567	512	302	157	180	75	39	323	439
Died	1 262	29	249	430	21	157	3	75	39	2	257
% of mortality	15,4	0,6	15,89	83,99	6,93	100	1,67	100	100	0,66	58,54

This table shows that the greatest amount of diseased animals comes from the aphthae epizooticae (152,226 heads), but this disease gives every year a different quantity of ill animals (34000 in the year 1910 and 447 in 1913). If we exclude this illness, it must be said that the cattle suffers mostly from piroplasmosis. It seems that by the quantity of mortal cases the piroplasmosis is on the second plan (after the anthrax), but this is an error, because the quantity of cattle dead from the anthrax embrases not only the cattle but the amount of dead horses as well. By the quantity of mortal cases the piroplasmosis must certainly occupy the first place.

The loss occasioned by the piroplasmosis yearly (counting 40 rubles the head) will be 9,960 rubles, 328,720 rubels during 33 years. The loss in the government of Novgorod during 1910—1912, from the death of 3,115 heads expressed itself in 126.600 rubels. The loss coming from other diseases was much less.

Only in 1912 one began to strife against the piroplasmosis in the gov. of Novgorod (although long before in 1912 Matweieff gave the statistic accounts of this disease). Saikowitch, chef of the bacteriologic veterinarian laboratory, was the first who largely organised (in 1912) the treatment of animals sick from piroplasmosis as well as their vaccination. The results were favorable. We will further mention one part of the work Mr. Saikowitch undertook (treatment with trypanblue).

In the government of Olonetz (now republic of Karelia) the sytematic works of treatment and strife against the piroplasmosis were commenced only in 1922, by Mr. Potschesersky, the administrator of the veterinarian compartment of Karelia. Only the government of Petrograd undertook no works in this direction. It is true that the country courts strived to give help in this direction, but all these attempts were of no serious character and gave absolutely no results.

In 1922 the administrator of the veterinarian section of the land administration Mr. Belinky proposed the organisation of a systematic

strife with the piroplasmosis in the government of Petrograd. Therefore the bacteriological veterinarian Institute in Petrograd organised the Protozoologic Section, asking prof. W. L. Yakimoff to administrate it.

II.

Epizooty of the piroplasmosis of the cattle in the estate „Kostroni" (district of Luga of the gov. Petrograd).

By Prof. **W. L. Yakimoff,** veterinarian **K. R. Klutschewsky** and student-vet. **B. W. Zawialoff.**

This estate („Sowhose") possesses all the possible conditions for the development of the piroplasmosis; it is surrounded by bogs and damp places, overgrown with shruberry and forests. The cattle pastures all the time on damp or wet pasture ground. All the surroundings represent the same damp and boggy grounds.

This character of ground is favourable for the development of ticks, that are here in the north and north-west, the sole representatives of the ixodofaune, that is—Ixodes ricinus. As soon as the cattle is let free to pasture the ticks in great quantities assail the animals to such an extent that they come home positively covered by these arachnides. The shepherd's leges are as a rule, bestrewed with ticks up to the knee.

The part years gave a certain amount of piroplasmosis diseases, but as the cattle was as local one the cases were single, the mortality rare. In this year the quantity of cattle of the estate was completed by 100 animals that were brought from the government of Yaroslav (race well known for its lacteousness).

To the commencement of the epizooty the estate possessed a 100 animals—100 imported and 3 of the local cattle, of wich it was impossible to say had it been already ill or not. The cattle, imported from Yaroslav, arrived to the estate in March and April. Till the end of May it was kept in the stalls. As long as is did not leave the stalls, no cases of piroplasmosis were noted. The districts of Yaroslav from where the cattle was imported, were free from piroplasmosis. The cattle had never been ill from piroplasmosis and was therefore succeptible to the new infection. On the 26th of May the cattle went to pasture. The first cases of piroplasmosis occurred on the 7th of June, that is exactly 12 days after. Otherwise said the incubation period of this region is 12 days. From this day until the end of August the piroplasmosis did not cease. Out of all the animals 70 were diseased, that is to say 67,9 %, so as 3 animals were of local cattle, it means that of the cattle of Yaroslav 70 % fell ill, or nearly $^3/_4$ of the stock.

In June 53 animals (75,7 %), in July 14 (20 %), in August 3 (4,3 %). The greatest number of cases (40 animals, t. i. 51,7 %) were in the second half of June, more than the half of the general amount of cases during the epizooty. June is the month that gave the greatest amount of disease in general—53 (75,7 %) that is $^3/_4$ of the total amount.

The first cases, as we already mentioned, were noted on the 7th of June. From that day up to the 16th of June 13 animals fell ill. Of them 4 died before us, 4 recovered. At the moment of our arrival 5 were ill, two of them were ill since 2 days and 3 since three days.

All the 5 animals were treated with injections of trypanblue (4 g each); although it was supposed that the disease was already too grave and that the injection could be of no use. In fact 3 animals (ill since 3 days) died, but 2 (ill since 2 days) recovered. These 3 animals may be considered as dead from piroplasmosis without treatment, because the treatment with trypanblue on the 4th day of the disease gives no positive results. Thus of all the 11 diseases animals 7 died (63,7 %) and 4 recovered (36,3 %).

We have already said (see Ch. I) that the percentage of mortality deduced from the official accounts is lower than in reality. Even if we increase this amount twice, still the percentage of mortality of the local cattle is lower, than that of the newly imported one; the percentage of this cattle equals 63,7, this approaches the percentage of mortality from south russian piroplasmosis.

As soon as we arrived to the estate Kostroni we organised the strife against the epizooty by: 1) strict inspection of the herd; 2) timely isolating the suspicious and evidently diseased animals and 3) by treating them with specific drugs (essentially with trypanblue; some cases with ichtargan and luargol).

Thus the study of the piroplasmosis as well as the strife with this disease by means of chemiotherapic drugs was conducted in this estate under especially favourable circumstances.

Firstly, the cattle was a newly imported one, it was possible that some of the animals had already supported the disease, but all of them were brought from places free from piroplasmosis. This gave us the possibility of surveying the course of the disease and the effect of the treatment almost as in a laboratory.

Secondly, all the manifestations of the disease as well as the effect of the treatment could be followed on all the animal from the first to the last, almost in clinic conditions.

For surveying the animals one of us was continually present at the estate from the 14th of June till the 31st of August. Thanks to this, no of the manifestations of the epizooty as well as the disease of single animals passed unnoticed. As soon as the animal fell ill it was immediately separated from the rest of the herd and treated. Except that, all the herd was inspected every morning before going to pasture; the animals that were suspected being ill were sent to the lazarett; their temperature was measured, their blood taken for analysis. Thanks to microscopic analysis some of the animals (4) were treated before the apparition of blood urine. Some of the smears were examined in Kostroni, but the greatest part of them were sent to Petrograd and were examined in the Protozoologic section of the bacterio-veterinarian Institute.

III.

Symptomes of the piroplasmosis of the cattle in the north-west region of Russia.

By Prof. **W. L. Yakimoff**, Miss **W. J. Wassilewsky** (†), assistant, and students-vet. **B. W. Zawialoff, M. F. Iwantschikoff** and **J. S. Oulassewitsch.**

Krogius and van Hellens, as well as Kossel and Weber count 14 days for the incubation period of the finnish hemoglobinury-

The same length of period is given by Kossel, Weber, Schütz and Miessner for the German one. Our observations give a shorter term.

We have already mentioned that the cattle was sent to pasture for the first time on the 26th of May; that the first three cases were noted on the 7th of June, t. i. after 12 days.

As soon as the disease begins the temperature rises; it can rise up to 40—41° C and even up to 41,9°. Some cases were noted with less high temperature (38,9—38,8°) even one case with 38,1°.

The temperature was between 40° and 41°, then come the cases with the temperature 39—40°, the less of cases were with 41—42° and 38—39°.

At the same time with the rising of temperature appear general symptoms. The animal becomes motionless. Further on the animal lies down streaching out its head and legs. The animal seems apathic, oppressed. Some animals groan. The appetite decreases and then dissapears entirely. Sometimes the animals feel thirst on the first two-three days. As soon as the blood-urine appears the pulse rises, it can rise up to 100—110. Sometimes it is very weak; the heart works irregularly. Sometimes the beating is so strong that all the breast is shaken. Often the pulsation of the v. jugularis is to be seen. Sometimes a rapid tremblement of some groups of muscles can be noted.

The decrease of the quantity of milk (up to $^2/_3$ and even the half of the foregoing quantity) is one of the first symptoms. Further on the milk can dissappear entirely. The quantity of grease decreases. Thus in the estate Kostroni where the percentage of grease-contents was verified every day. It was generally 4,6; the milk of diseased animals gave only 3,5 % of grease. In one case the reddening of milk was noted.

The most characteristic symptom of the disease is the red colour of the urine. The blood-urine appears on the 2—3 days sometimes on the first day after the rising of temperature. Its colouring is different from pale rose to the dark colour of porter. The opportion of the urine is first by executed freely in streams, further on in small portions with more or less strain. The microscopic analysis of the urine shows no red corpuscles.

The mucous membrane gradually become pale at the same time the jaundice appears. The yellow colouring is to be seen on the mucous membranes and still better on the skin (especially the skin of the udder). The degree of the jaundice is variable from weak, heardly remarkable, to that of the colour of the chrome. Nearly all the animals had the jaundice. As we will further see this symptom stays a very long time.

The paleness of mucous membranes depend from the decrease of the quantity of red corpuscles (olygocythemie) and that of hemoglobin (oligochromemie). The blood becomes paler and paler, sometimes it is watery; this interfers the making of smears. In the blood the anisocythosis (macro-, and microanocythosis) is noted. Sometimes the poikylocythosis and basophilie as well.

By some animals we noted the increasement of the inguinal glands (sometimes on one side), but we cannot, as yet, say if this is to be considered as a piroplasmosis symptom.

With the development of the disease the animal emaciates more and more, becomes weaker and at last can hardly stand on its legs. The emaciation remains a very long time even after recovery.

To all these apparitions, those coming from the digestive organs add themselves. The disease begins generally by diarrhea. The evacuations are liquid, but not fetid. We noted no blood in them, as it is general during the german hemoglobinury. 12—14 hours later, frequenter after a couple of days (generally on the 3—4th day), the diarrhea transforms itself to constipation, sometimes to a very stubborn one. The animal strains itself, but can not evacuate. The constipation is very stubborn and in some of the dangerous cases it is the cause of the animals death.

In cases with deathly end the urine becomes blood-red. The temperature continues rising; it can rise almost to 42°. But after that the temperature suddenly falls during several hours to one lover than the normal one (up to 36° and even 35°). The horns, the ears and the extremities of the body become cold. The pulse becomes frequent and very weak. The animal dies in complete prostration. Once strong convulsions were noted.

Some cases were observed when the animal visibly recovered; after some waverings the temperature became normal, then suddenly it fell and the animal died.

The death takes place after 3, 4, 5, rarely 6 days after the apparition of the hemoglobinury.

In cases with favourable elapse the temperature begins to fall on the 23—4 days after the apparition of the blood-urine, sometimes suddently during several hours, sometimes during the 2—3 following days. In some cases the falling of the temperature is menacing, it can be even at the end lower than the normal one (up to 36,5°), then again it equalises itself. On the 4—5 day the urine clears up. The appetite reappears. In the blood large red corpuscles (up to 9 μ) with a basophil granulation appear (the socalled "géants pointillés" of Lignières), which is counted to be a favourable diagnostic symptom. It is however noted that even after visible recover the animal is still a long time constipated. Thus in the district of Lodeinoe-Pole, out of a 100 cases (after the clearing up to the blood-urine) 68 animals were still constipated. A certain time the slowness of heart is noted as well. These two symptoms may still be marked during the next two weeks after the disapearance of all the rest of them. Full recovery takes place very slowly, it takes nearly two months.

Summing up all the symptoms of the disease we receive the following scheme:

General symptoms	Symptoms that appear during clinic observance.
Apathy	High temperature. Rapid pulse.
Decrease of appetite Decrease of milking	Changement of heartfonction.
Hemoglobinury	Rapid breath.
Diarrhea. Constipation	Decrease of the quantity of erytrocytes and that of hemoglobin.
Jaundice	Presence of piroplasms in the erytrocytes.

The most menacing of symptoms are: high temperature, hemoglobinury, weakness of heart-function and constipation. These three symptoms must be treated by:

1) Specific treatment directed against the piroplasms; as result of their destruction the falling of temperature and the clearind up of the urine will take place;

2) Symtomatic treatment directed to sustain the function of the heart and to regulate the functions of the intestinal tract. We shall speak once more of this later on.

IV.

Pathologo-anatomic changements during the north-west piroplasmosis.

By Prof. **W. L. Yakimoff, K. R. Klutschewsky** and **B. W. Zawialoff.**

The pathologo-anatomic changements during the north-west piroplasmosis have already been described by Krogius and v. Hellens and Kossel and Weber. The last two authors in collaboration with Schütz and Miessner have studied the pathologo-histological changements of the organs.

In the estate Kostroni we dissected 14 corpses of animals dead from piroplasmosis. The pathologo-anatomic picture was nearly the one described by the above noted authors.

First of all one is sticken by the meagreness of the corpse.

Thanks to the jaundice the subcutaneous tissue is generally coloured in yellow (more or less strongly). The serous membranes are of the same colour.

The quantity of red corpuscles being diminished, the parenchimatous organs show a certain degree of anemy. The muscles are pale.

The milt is enlarged, sometimes it is twice as large as it was, sometimes only a little larger. Its surface is smooth. The brims are round. In the cut the pulp protrudes, but is not soft, and the blood is not liquid. This enlargement is due partly to the hyperplasy of the organ, partly to the hyperemie. By this symptom the piroplasmosis of the north-west region could be confounded with the anthrax, but then the milt is much larger, the pulp is more liquid and when cut the blood is thin and dark; during the piroplasmosis the blood is red. Kossel and collabor. found no ecchymoses in the milt, but they were noted by other german authors. Except that many german authors noted the rupture of the milt. In Russia no one mentioned this apparition, but in the next chapter we will see that it is to be found in Russia as well.

The liver is enlarged. Its brims are round. It is anemic and the surface of its cut is brown. But sometimes the organ seems quite normal.

Special attention is due to the gallebladder. It is extended and full of gall. The gall is generally grainy, thick, of yellow-green colour. Once it was found to be of orange colour, reminding of tomato pure. However, we have never seen a gall as described by Kossel and collabor., hard enough to be cut with a knife. In very rare cases the gall shows no changements whatever. We have, equally, never seen any ecchymoses bladder on the membrana mucosa; sometimes apparitions of catarrhous condition are to be noted. Nevertheless Kossel and

collabor. constitute that the small vessels of the bladder and those of the gall passages, were filled with blood and that on the membrana mucosa dots of petechies are to be seen.

The kidneys are enlarged. The capsul is easely taken off. Oftener of all they are of dark colour both in the cortical as well as in the medullar layer. In general the tissue of the kidneys is turbid.

In the most of cases the urine-bladder is filled with dark-red urine. Only once out of 14 cases it was empty, and once with a very small quantity of urine. We found twice ecchymoses on the membrana mucosa; in one case a large ecchymose was seen on the serous membran, in another on the membrana mucosa dotted ecchymose were noted. Kossel and collabor. do not mention any apparations on the serous or the mucosus membranes of the urine-bladder.

The first compartiment of the stomach is full. The reticulum is more or less filled with food; sometimes with food so hard that this compartments of the stomach is as hard as a stone. On the mucous membrana of the abomasus-catarrhous aparitions are to be found, but no hyperemy, nor ecchymoses were to be seen; only once on the serous and mucosus membranes-ecchymoses were found, as large as a bean.

The intestines are generally in normal condition; only once simultaneously with those of the abomasus, ecchymoses were found on the serous and mucous membranes. We can say nothing of the glands of Peyers because no attention was fixed on them; Kossel and collab. found them swollen, sometimes covered with red dots; they found the lymphatic glands of the intestine swollen as well.

There is nothing to say about the lungs, except that they are swollen and emphysemateous.

The heart is always flabby, sometimes much enlarged with thin sides. Only once on the pericardy and endocardy small ecchymoses were seen. Mr. Maraieff in the pathologo-anatomic laboratory of Prof. Freiberger found on albumen degeneration.

The bone-marrows are anemic, so that it is impossible to make a smear. In some cases they are red.

The brain was observed only once, when the animal died with convulsions of all the body. In this case it was swollen. Under the tunicles liquid was found.

Thus all the pathologo-anatomic apparitions during the piroplasmosis (exixted by Babesiella bovis) may be lead down to anemia, that comes from the destruction of the red corpuscles and the passing of the hemoglobin into the urine, to the hyperemy of the heart, the liver and the kidneys as well as the hyperplasy of the milt. Kossel and collab., say: hemoglobinury and hemoglobinemy, intumescentia lienis hyperplastica acuta, hepatitis parenchymatosa, icterus catarrhalis hepatis, nephritis parenchymatosa levis, myositis and myocarditis parenchymatosa levis and osteomyelitis acuta.

What is then the pathogenesis during the piroplasmosis? On ground of clinic study, pathologo-anatomic and hematological observations we can represent ourselves the following process.

The piroplasms that have attained the blood, multiply and work toxin out. The toxin operates on the warming centre evocating the fever; it operates on the red corpuscles as well dissolving them; their

hemoglobin comes first into the plasm of the blood and then from there through the kidneys into the urine. The changements in the heart, the liver and the kidneys is also explained by the toxin. The toxin of the Babesiella bovis has evidently weak hemorrhagic properties, that is why ecchymoses are rarely noted. The strong loss of red corpuscles in the circulating blood forces the sanguificating organs to work intensively and recompense the leucocyte-formulae. As result of this work the hyperplasy of the milt and the bone-marrows takes place.

Kossel and collab. are inclined to explain the jaundice by catarrhae condition of the gall-passages or their complete blocking. This hepatogen proceed of the jaundice is without doubt bit still more, seems to us, it occurs from hematogen proceed that comes from the colouring matter that exceeds from the red corpuscles into the blood. The meagreness and general exhaustion are the result of anemia and the transgression of appetite.

V.

The rupture of the milt during the north-west piroplasmosis of the cattle.

By Prof. **W. L. Yakimoff** and stud.-vet. **M. J. Iwantschikoff, J. S. Oulassewitsch** and Miss **E. F. Rastegaieff.**

The rupture of the milt during piroplasmosis of the cattle was noted long ago. M. Nicolle and Adil-Bey (1889)) saw two cases amongst the ill cattle, that was brougth to Constantinopol from Crimea. De Jong noted the same apparition in Holland, this gave him the idea to name the piroplasme that was found Piroplasma rupturae lienis.

In 1909 in Germany Witt described some cases with rupture of the milt as „malaric fever of the cattle", before that, same cases were noted by Vollers (1877—1878) and by Wederkind (1880—1881). The veterinarian Hinrichsen (1882—1895) observed ruptures of the milt every year with hemorrhagy into the cavity of the peritoneum. Brasch (1896) compares the cases with rupture of the milt with malaria infection and describes them as an infectious disease. Berg in describing a great quantity of cases of rupture of the milt does not give any suppositions or indications of their exciter. Later on the German authors Knuth and Meissner and Miessner paid special attention to this question. They observed several cases in Prussia.

Sometimes the clinic symptoms of the rupture of the milt give cause to suspection of the anthrax; thes Wilkens observed two cases of the rupture of the milt with hemorrhagy into the cavity of the peritoneum; in both these cases it was suspected to have come from the anthrax.

In some cases Knuth and Meissner found piroplasms in the smears of different organs. These were oval, pear or ameboid form, sometimes lying singly or in pairs inside or outside of the red corpuscles. The authors say that these parasits „stimmen morphologisch vollständig mit dem Erreger des Texasfiebers und der heimischen Hämoglobinurie der Rinder überein". Exept these in the smears of the milt, the heart muscle and the liver, rarely in those of other organs small parasits were found. They were placed in pairs in the red corpuscles, partly outside of them.

Their characteristic colouring (blue protoplasm and red chromatic nucleus) indicates their protozoorigin. Remarkable is the fact, that the greatest quantity of these parasits was found in the hemorrhagy in the cavity of the peritoneum.

Except these two forms, Knuth and Meissner found small dot like bodies that coloured themselves by Giemsa stain in red. They were placed in the red corpuscle of near its edge. These same bodies were found in the blood of some live cows. These form Knuth and Meissner think identic to those that were described by Smith and Kilborne as „ coccus like bodies" of the Texas fever, by Theiler in South Africa as „marginal points", that were found by Knuth in Uraguay and Lignières in Argentins, Dschunkowsky and Luhs in the South of the Caucasus and Yakimoff in Turkestan. These forms are parasits, called anaplasms (marginale and centrale).

What are all these forms found by the german authors? To judge by the microgramms that were given in Knuth and Meissners article they are piroplasms of the bigeminum type. It is possible that the ring-forms (fig. 7—10) are piroplasms of the bovis type. These authors suppose that the so-colled malaric fever of the cattle and the hemoglobinury must be considered as two different diseases. Then Kossel, Weber, Schütz and Miessner found no hemorrhagy during the hemoglobinury but in their cases the hemorrhagy in the milt capsul was found as a rule. But they do not design the piroplasms as cause of the milt-rupture. They are inclined to think the dot like elements that were found in the blood of some of the dead animals, responsible of this fact. Knuth and Meissner suppose that the rupture of the milt depends evidently from the dot like forms that they think to be anaplasms but in no means from the piroplasms.

Kossel, Weber, Schütz and Miessner found no hemorrhagy in the milt during the german hemoglobinury.

Krogius and v. Hellens as well as Kossel and Weber note no rupture of the milt during the finnish hemoglobinury. The Russian authors Beinarowitsch and Dratschinsky give no pathologo-anatomic accounts at all. Thus one can form the conclusion that during the north-west piroplasmosis no rupture of the milt occurs.

In dissecting the corpses of the dead animals in Kostroni special attention was paid to the milt, its rupture nevertheless was not observed. But two of us noted two cases of the milt-rupture in the district of Lodeinoe Pole (the general amount of dissections in this district was 17).

Case I. Cow of 2 years and 5 months, of local origin. Blood-urine since 3 days (evidently). Urine of ruby-red colour. Absence of milk. 14/VI 12 o'clock of the night—to 39,20°. Dead on the 15/VI at 15o'clock. Dissection: mucous membranes-normal, intestines—normal; milt—enlarged, of brown-blue colour with the rupture on the side adjacent to the cap; the pulp on the place of the rupture is of intense brown-red colour; the heart, the organs of respirations, the sexual apparatus; the gallbladder enlarged and full of gall.

Case II. Cow of $4^1/_2$ years old. Fell ill on the 13th of July. Exterior mucous membranes—pale. Pulse 92—112. Vigourous pupations. Reiterated respiration, sometimes convulsive. T° on the 13th, 14th, 15th and 16/VII shows no considerable waverings (38,4—38,8°). No milking since the 14/VIII. Dead on the 17/VII. Dissection: mucous membrans—pale; intestines (except the gallbladder that is enlarged and full of gall)—normal; the organs of respiration well as both the urine and sexual apparatus—normal. The milt enlarged with rotund

edges; on this side adjacent to the cap a rupture is noticed; the exterior colouring of the milt is a brown-blue one with a violet tint; the place of the rupture is of intense red colour, the milt-pulpe in flabby, on the place of the rupture it is like gruel; there are two ruptures: a large one, on the middle of the organ; it spreads in large of the organ, nearly 17 cm. long, the second one in length of the organ at the lower edge of the milt, 7 cm. long; on the cap, on the place where the milt adjacents a large hemorrhagy is to be seen.

Case III. Cow 6 years old, imported. In ten days the calving ought to have taken place. Had already supported the hemoglobinury in 1923, but recovered. Fell ill on the 6/VII. Temperature—40,3 °, Pulse—100. Respiration—32. Diarrhoea. Ruminiment and peristaltic present. Urine dark; is segregated frialy, in streams. The production of milk is reduced to the quantity of a tea-cup. Dead on the 8/VIII. — Dissection: the milt much enlarged, of normal colouring, is very soft and tears even from light pression; under the pulpe in two places ruptures with hemorrhagy are clearly to be seen. The capsul is unulterated. The liver is normal, but the gall in the gallbladder is of intense yellow colour as thick as cream with grumous condensations in it. In the lungs posthumous atelectas is noted as well as a local cyanose; the left lung and the breast bone are grown together. The urine in the urine-bladder is dark red, the mucous membrans are normal.

Therefore it is possible to say that the rupture of the milt, during the north-west piroplasmosis, occurs. The veterinarian Mr. Toumanoff (in Petrosavodsk) observed 4 cases of the rupture of the milt during piroplasmosis.

What conditions or what parasite evokes the rupture of the milt?

Knuth and Meissner found piroplasmosis of the bigeminum and sometimes of the bovis type, as well as dot like forms that they think to be anaplasms. In the north-west region of Russia only Babesiella bovis is to be found; the bigeminum type does not exist here. Knuth and Meissner suppose that the dot like elements anaplasms are responsible of the rupture of the milt. But their description does not persuade us that these forms were really anaplasms. Ten up to now, the anaplasms always coloured themselves by Giemsa in violet, the Knuth and Meissner formations coloured themselves in red. It is possible that these elements were Howell-Schmauch (Howell-Jolly) bodies; the authors themselves think it possible.

We had in our dispositions 65 preparations of blood coming from ill animals and several preparations of blood of healthy animals, but we saw no such formations as Knuth and Meissner found, so that it seems to us that no anaplasms are to be found in the north-west region of Russia. Nevertheless anaplasms are to be found in Russia. In the south of the Caucasus they were noted by Dschunkowsky and Luhs (1904) who supposed them to be one of the forms of the Piroplasma (Theileria) annulatum; Yakimoff (1913) saw them in Turkestan.

The north-west region of Russia does not possess the tick that transfers the anaplsms: only Ixodes ricinus is to be found here. In the south (in the south of Africa and America as well as in the Caucasus and in Turkestan) the anaplasms are transfered by the tick of the Boophilus-genus.

Nevertheless at the international veterinarian Congress in London (1914) Knuth did not directly mention the exciter of the disease, neither the piroplasms nor the anaplasms. Knuth stated very carefully that if the piroplasms are of any responsability in the hemorrhagy, still it is possible that they are of second rank; that the real exciter is not yet found.

In both the cases of Lodeinoe-Pole the analysis of the blood was not fullfilled, but the clinic symptoms (blood-urine) distinctly show that the disease was, withoubt doubt, piroplasmosis. In the north-west region of Russia the sole exciter of the disease is Babesiella bovis that is why we are inclined to think that the rupture of the milt is due to infection by Babesiella bovis.

Still we think that further research and study are indispensable.

VI.

The variableness of the blood of the cattle during north-west piroplasmosis.

By Prof. **W. L. Yakimoff,** Miss **W. J. Wassilewsky** (†), assistant, and stud.-vet. **G. G. Bendinger, M. Iwantschikoff,** Mme. E. N. **Markoff-Petraschewsky** and **J. S. Oulassewitsch.**

1. Haemo-leucocytar formulae of the normal blood of the cattle.

We give here our investigations of the normal blood of the cattle. Except that we give here the accounts of the foreign litterature, thus we show better the normal waverings of the quantity of blood corpuscles.

Our investigations of the blood of cows in the slaughter-house of Petrograd, of that of the animals in the estate Kostroni and those of the laboratory: red corpuscles 5 440 000—7 040 000 and white corpuscles 7 100—8 800 in 1 ccm.

The leucocytar formula waveres the more the percentage of their variability rises. Their quantity depends from every infection that can sometimes pass clinically unnoticed. The intestinal worms increase the percentage of the eosinophiles. Our proper investigations are given: lymphocytes 31—44,5 %, mononucleares 0—2 %, transitions forms 1,5—7,3 %, neutrophil polynuclears 44—62 %, eosinophiles 2,3—11,5 % and mastcells 0—0,5 %.

In the litterature we could find no accounts of the Arneth formula of the cattle. It seems that our accounts are the first on this question.

We applied counting to 20 animals, in 15 of them we counted the leucocytar formula. The accounts were as follows: II nucleus 10 to 24,5 % (medially 18,1), III n. 35—49 % (m. 1,2), IV n. 18—31 % (m. 26,6), V n. 3,5—18 % (m. 11,3) and VI n. 0—5 % (m. 1,8). Arneth-index: 273—371 (m. 341,9).

2. The modification of the blood coming from the infection of the cattle with Babesiella bovis.

The investigations of the modification of the blood during piroplasmosis were fulfilled essentially with red corpuscles. Smith and Kilborne noted a decrease of their quantity during Texas fever. Lignières gives very exact ciphers that show that the quantity of red corpuscles decreases visible (in one case of Tristezza there were 31 000 in 1 cmm).

There are very few Russian accounts on this question. In Beinarowitsch's experiments of the experimental infection with Babesiella bovis the quantity of red corpuscles decreased during 19 days from 4.500.000 to 3.100.000. It is difficult, to make any conclusion about the quantity of white corpuscles because the counting method of this author was very irregular, but it seems that when piroplasms were found in the blood a leucopeny took place (4,500—4,800 in 1 cmm, instead of the former 6,300); after the dissapearance of piroplasms their quantity became normal again.

Bekensky notes that during 4 mortal cases of the infection with Piroplasma bigeminum the quantity of red corpuscles decreased: in the first animal from 10.300.000 to 4.850.000, in the second from 10.5000.000 to 5.000.000.

Bekensky does not give the quantity of red corpuscles of the third and fourth animals before the infection, but a day before the death the quantity was 52.300.000 and 2.000.000. In three animals that recovered the quantity fell: in the first animal from 8.800.000 to 3.600.000, in the second from 7.184.000 to 2.100.000 and in the third from 6.800.000 to 2.000.000.

As regards to the white corpuscles it was found that in animals dead from piroplasmosis a leucocytose was noted (sometimes a very considerable one—up to 27.084). In animals that had recovered from the leucocytose the quantity of white corpuscles became normal again. We can make no conclusion of the types of white corpuscles, because the author counted them only in the blood of two animals, and did not count them before the infection so that we do not know their normal correlation in these animals. In general an encreasement of lymphocytes seems to be observed as well as that of the percent of neutrophiles and eosinophiles as well.

Our observations thanks to the conditions of work, cannot pretend being complete, except that our attention was cheefly draughn to the leucocytar formula. Nevertheless we have several accounts on other modifications of the blood.

The red corpuscles.

We counted the general quantity of red corpuscles on the first day of the hemoglobinury in two cows. The quantity of erythrocytes was 3.456.000.

We have a larger material on the regeneration of red corpuscles after the adaption of specific means. They are illustrated by table III.

We have already seen that in diseased animals the regeneration of red corpuscles is very slowly fulfilled; even $1^1/_2$ month after the commencement of the disease their quantity had not yet reached the former cipher.

The recedes destroy the red corpuscles again. 45 day after the commencement of the disease and 20 days after the receder the quantity of red corpuscles decreased in comparison to the animals that had no recede.

The quantity of the red corpuscles modifies from the very first days of the disease—anisocytosis is plainly visible. The macro- and micro-

cytes are met the whole time in more or less considerable quantities. Sometimes the poikylocytes and polychromatophiles are met, rarely the normoblastes.

Table III.

Nrs. of animals	The dose of trypanblue	Time		
		of the fall of the temperature	of the disparition of the piroplasms	of the disparition of the hemoglobinury
47	3 gr	on the 2 day	on the 4 day	on the 3 day
49		" " 2 "	" " 4 "	" " 4 "
91		" " 2 "	" " ? "	" " 3 "
84		" " 2 "	" " ? "	" " 3 "
66		" " 2 "	" " ? "	" " 3 "
15		" " 3 "	" " 3 "	" " 4 "
17		" " 3 "	" " 4 "	" " 3 "
21		" " 3 "	" " 4 "	" " 4 "
35		" " 3 "	" " 5 "	" " 4 "
48		" " 3 "	" " ? "	" " 4 "
19		" " 3 "	" " ? "	" " 4 "
95		" " 3 "	" " 5 "	" " 5 "
57		" " 3 "	" " ? "	" " 4 "
75		" " 3 "	" " ? "	" " 3 "
14		" " 4 "	" " 3 "	" " 4 "
88		" " 4 "	" " 4 "	" " 4 "
83		" " 4 "	" " 4 "	" " 4 "
29		" " 4 "	" " 4 "	" " 4 "
58		" " 4 "	" " 4 "	" " 4 "
67		" " 4 "	" " 2 "	" " 5 "
73		" " 4 "	" " ? "	" " 4 "
87		" " 5 "	" " 5 "	" " 4 "
74	4 gr	" " 3 "	" " 4 "	" " 3 "
54		" " 4 "	" " 4 "	" " 4 "
34	5 "	" " 3 "	" " 3 "	" " 3 "
105		" " 3 "	" " ? "	" " 3 "
33		" " 4 "	" " 4 "	" " 4 "

Lignières noted a very interesting apparition in the blood of animals recovering from the Tristezza the so called "géants pointillés". Their apparition is a favourable one: it is a symptom of the beginning recovery.

In our observations we met the "géants pointillés" in 34,8 % of all the investigated cases. They appear at a different time in the blood:

on the first day after the appliement of chimiotherapic means in
2-nd " " " " " " " " 15,3 %
3- d " " " " " " " " 23 %
4-th " " " " " " " " 15,3 %
5-th " " " " " " " " 15,3 %
6-th " " " " " " " " 7.6 %
9-th " " " " " " " " 15,3 %
11-th " " " " " " " " 7,6 %

The géants pointillés appear oftener of all on the 3rd day after appliement of specific means.

In relation to the disparition of piroplasms from the blood and the termination of the hemoglobinury we could note as follows table IV.

Table IV.

Nrs. of animals	Injektion of trypanblue	Disparition of the piroplasms	Disparition of the hemoglobinury	When did the géants pointillés appear
15	VI 16	VI 16	VI 18	VI 17
35	VI 27	VI 31	VII 1	VI 30
34	VII 3	VII 5	VII 5	VII 4
87	VII 15	VII 18	VII 18	VII 16
74	VII 27	VII 30	VII 29	VII 29

This table shows that in the most of cases the géants pointillés appear before the disparition of the piroplasms from the blood; rarely at the same time. The hemoglobinury disappears on the next day after their apparition.

White corpuscles.

On the first day of the hemoglobinury we counted the general amount of white corpuscles (two cases). In both the cases their quantity was neither lower nor higher than the normal one.

Under the effect of chimiotherapic drugs the quantity of white corpuscles increases. We have two observances: one case that was treated with trypanblue, the other with ichtargan.

Cow Nr. 74. 27. VII. White corpuscles (in the morning) 8.200. 4 g of trypanblue were injected. 4 hours after the injection the quantity of white corpuscles was 9.800.

28 W. e. — 9.700
29 „ —16.500
30 „ —13.400
31 „ — 8.000
VIII 1 „ —10,000

Cow Nr. 41. 30. VII. White corpuscles—6.700. At 8 o'clock in the evening 1 gr. of ichtargan was injected

31 W. e. (14 hours after the inject.) —7.500
VIII 1 „ (14 „ „ „ „) —7.200

In both the cases the amount of white corpuscles increases after the injection, specially after the injection of trypanblue. Further on their quantity decreases till the normal one. This occurs on the 5—6 day (with trypanblue; Nr. 74 on the 5th day; Nr. 44 on the 5th day; Nr. 79 on the 6th day).

During recedes the general amount of white corpuscles increases.

Leucocytar formula.

Very considerable modifications are to be noted in the leucocytar formula. We mean the increasement of the percent of lymphocytes (47—71 % instead of the ordinary 37—40 % for this race of cattle) and the decrease of the percent of neutrophiles (18,7—46,3 % instead of 52—54 %). Equally an increase of the percent of large mononucleus (sometimes until 10,5 % instead of the ordinary 0—1,5 %) and transition forms (sometims up to 8,5 % instead of the ordinary 1,7—3,7 %). Sometimes (not as a rule) Mastzellen are noted. Türk's „Reizungs-

formen" are always present in the quantity of 0,6—2,7 % and sometimes microcytes (1—5 %) and cellules of the marrow-bone (0,5 %) as well. In general the mononucleose is cleary to be seen.

During the recedes and in cases when the temperature rises after the disparation of all the symptoms of the disease an increase of the percent of the mononucleares and a dicrease of the neutrophiles observed.

After the injection of trypanblue the leucocytar formula is still more destroyed: the percent of the lymphocytes increases more and more until 82,3 % the percent of the neutrophiles prophiles decreases sometimes up to 8 %. The percent of the large mononucleares does not change in the most of cases, on the contrary the percent of the transition-forms rises very (up to 20 %). It is interesting to note that the percent of the eosinophiles falls low and sometimes they dissappear entirely, but later on they can again be observed in the blood. The percent of the Türk-forms falls little by little and at last disappear entirely.

Such a state lasts a certain time. During the disease of the cow Nr. 105 (trypanblue) we see that after six days an equilibrium takes place in the leucocytar formula. The formula of the cows Nr. 90 (ichtargan) and Nr. 74 is set right after 4 days. This coincides (as the cow Nr. 74 shows it) with the fall of the leucocytose.

The treatement with ichtargan and luargol gives the same result. The percent of the lymphocytes increases, that of the neutrophiles dicreases.

Arneth-formula.

The apparitions of the Arneth-formula are also very interesting.

We have already said that the medial of the Arneth-index (for cattle) is 3 11,9. On the first day of the hemoglobinury only by one cow (Nr. 40) it was near to this number (338,5). In the rest of the cases it was considerably lower (301—329).

A priori one can say that this comes from the decrease of the quantity of neutrophiles with a large number of nucleus and the increasement of the elements with a smaller quantity of them, t. i. the declination of the formula to the left.

The percent of elements with two nucleus instead of the ordinary 18,1 % rises much righter, sometimes up to 33,5 %. There was only one exception (Nr. 80) by which it even fell (8,5 %).

The percent of elements with 3 nucleus (medially 42 %) in 11,1 % of all the investigated cases shows somewhat of a heightening (42,5 to 45,5 %) 66,6 % of the cases it falls (25—41 %) and in 22,2 % of the cases it remains nearly normal.

The percent of elements with 4 nucleus (medially 26,6 %) in 55,5 % of all the investigated cases increases (27—31 %), in 11,1 % it remains without any modification and in 33,3 % it becomes less (19,5—26 %).

The percent of elements with 5 nucleus (medially 11,3 %) in 88,8 % of all the investigated cases lowers (2—11 %) and in 11,1 % of the cases it hightens (12,5 %).

The percent of elements with 6 nucleus (medially 11,8 %) lowers in 55,5 % of all the investigated cases and in 44 % it becomes higher (2—3 %).

Thus:

The elements with	2	nucleus	show	an absolute rise
„ „	3	„	„	a rise (more than a half)
„ „	4	„	„	that the rise and fall concur one another
„ „	5 and 6		„	a distinct fall.

Thus we see that the Arneth-formula declines to the left. This occurs in general during bacterial and protozoa infections (for ex. from trypanosomiasis; Yakimoff, Wassilewsky and Kohan-Marmer).

During recedes and in cases when after disparition of all the symptoms of the disease the temperature rises again the Arneth-index becomes lower and the different sorts of the neutrophiles show a decline to the left.

After the injection of trypanblue as well as that of ichtargan and luargol the Arneth-index continues falling, but after a certain time it begins to steady itself and then becomes normal. It seems that it comes to the normal state sooner after ichtargan than after trypanblue.

Equally do the neutrophiles show a certain time a decline to the left without regards to the drug that was injected. After a certain time a correlation is to be noted between the different sortes; it is very difficult to fix this time; to do that we need more observations.

Conclusion.

How does the blood morphologically change in the cattle during the infection with Babesiella bovis and during the treatment of this infection with chimiotherapic drugs?

We can note:

1) The decrease of the general quantity of red corpuscles as well as their qualitive changement (anisocytose, polychromatophily, poikylocytose, normoblasty).—2) The modifikation of the leucocytar formula by the rise of the percent of elements with one nucleus, the fall at the percent of neutrophiles polynuclear, the apparition of Türks Reizungsformen in the blood, of myelocytes and bone-marrow cellules as well.—3) The decline of the Arneth-formula to the left. All these phenomenes shows the full disorganisation of the blood and that of the sanguificating organs. The piroplasms destroy the red corpuscles. The sanguificating organs are not able to furnish the needed quantity, that is why we remark the decrease of the red corpuscles. Thanks to the fact that the sanguificating organs let out red corpuscles that are not entirely ripe we see the anisocytose (macro- and microcytes), poikilocytose, polychromatophily and sometimes the normoblastes.

The same reason hurries the ripening of the white corpuscles. We did not count the dissolved white corpuscles (leucocytolysis), but on the smears they were often seen. We have already seen that the quantity

of the neutrophiles, these „ripe forms" soon decreases, and the sanguificating organs begin to give more of the young elements—the lymphocytes whose quantity gradually rises on account of the destroyed neutrophiles. Thanks to this rapid production of the sanguificating organs we find Türk's „Reizungsformen" in the blood as well as the myelocytes and cellules of the bone-marrow which represent embryonal and developping elements of white corpuscles.

The decline of the Arneth-formula to the left comes as well from the introduction of young elements with a smaller quantity of nucleus into the range of neutrophiles.

The introduction of specific drugs irritates the sanguificating organs. That is why we at first see the heightening of the percent of lymphocytes and the decrease of the percent of neutrophiles as well as the decline of the Arneth-formula still more to the left. The disparition of piroplasms from the blood is not to be explained by the effect of the specific drugs, but as the theory of Ehrlich says,—thanks to the bodies that are formed in the organism under the effect of these drugs. The apparitions in the leucocytar formula demonstrate this reaction; it is possible opper on the piroplasms and prevent their multiplication.

After the disparition of piroplasms from the blood and the other symptome of the disease as well (high temperature, hemoglobinury) there is no more need in such a reaction and that is why the leucocytar and Arneth formula gradually become normal. Only the quantity of red corpuscles is still far from the normal one: it takes a long time before the work of the sanguificating organs fills up the loss. It takes $1^1/_2$ month to gain the normal quantity of red corpuscles.

VII.

The treatment of the north-west piroplasmosis.

By Prof. **W. L. Yakimoff**, Mlle. **W. J. Wassilewsky** (†), assistant, and stud.-vet. Mme **E. N. Markoff-Petraschewsky** and **B. W. Zawialoff.**

In the estate Kostroni (62 ill animals) two kinds of treatment were applied: 1. The specific one with the aid of chimiotherapic drugs, directed against Babesiella bovis, and 2. the symptomatic one for regulating the activity of the heart and the intestines.

Up to 1909 there existed no rational therapy at all. Thinking hemoglobinury to be kidney-disease different kinds of adstringent drugs were generally applied as: oak-bark and its active element tannine, Galbanum, Ferrum sesquichloratum and others. Even up to now, some of the veterinarians of the Petrograd government do not want to renounce using Plumbum aceticum.

We will not mention such harmless drugs as salicylat of soda, bicarbonat of soda, Acid hydrochloric and others. Supposing piroplasmosis to be a blood disease as malaria („malaria bovina" as Katschinsky named it) quinine was applied a very long time, as recommended by Podovani and Kroguis and v. Hellens. It occurs that even now quinine is sometimes prescribed. Dratschinsky gave quinine à 5,0 mixed to 15 drops of Acidi muriatici dil. and 15 grm. of salicylat of soda. Further on, quinine was applied no more per os, but injected under the skin. The is to be conside red as a little progress. The official accounts of our rural country courts as well as the statement of Hutyra and Marek note the uselessnes of the application of quinine, both per os and subcutane, nevertheless there seem to be veterinarians who insist upon its application although this method has been already rejected abroad.

The treatment of the piroplasmosis was firstly executed experimentally on dogs, that were, for this purpose infected with Piroplasma canis. The first experiments were made by italian experimentators Memmo, Martoglio and Adani (1905) in Kassala. They treated the disease with antihelminthica drugs and subkutane injections of quinine. After that they provoqued the formation of an abscess by introducing terpentine unter the skin; they seem to have received favourable results. Gonder (1907) did not receive favourable results applying atoxyl, Levy della Vida (1907—1908) tried a great amount of drugs (methylenblue, trypanred, brilliantgreen, cinchonin, cinchonidin, chinolin, chinolinred, cyanin, lecitin, cholesterin, berberin, resorcin, naphtol, kreosot, quinine salts, eucalyptol, extract of quassia, gentiana, valeriana, coffein, camphor and others), but without positive results.

In 1908 this question was studied in England by Prof. Nutall and Graham-Smith. They applied quinine salts, tartarus stibiatus, sodium methyl arsinat, methylblue, naphtol, atoxyl, brilliantgreen, benzopurpurin and kongored, but without any results.

In 1909 Nuttall and Hadwen applied arsenic drugs, arsacetin and soamin, with equally no results. The best results were from trypanred. The best af all was the treatment with trypanblue. Nine dogs were treated with it; only two died; the rest recovered. But the blood of the animals that recovered remained infective; even on the 165—210 days after complete recovery. Their blood proved to be infective for healthy animals. Only one dog which had previously supported a trypanblue injection did not produce the disease.

The fulfilment of the experiments of the treatment of piroplasmosis of dogs by trypanblue was executed by Jowett (1919) in the Cap colony. All the 6 experimentally infected animals recovered; naturally infected animals gave two fatal cases and 4 cases of complete recovery.

Trypanblue was injected under the skin; the introduction of it per os gave no positive results.

After these experiments with dogs Nuttall and Hadwen (1909) went over to experiment with the cattle infected with Piroplasma bigeminum (South Africa). Five animals were subjected to the treatment. The parasites disappeared from the peripheric blood 9—45 hours after the fulfilment of the injection.

After these experiments a great quantity of authors applied this treatment practically (Theiler, Moussu, Fraimbault, Ed. Sergent and collab., Dodd, Descazeaux, Lignières, Piot-bey, Goddal and others).

To judge by the litherary accounts, trypanblue was applied in Russia only by two authors Saikowitsch and Yakimoff (we exclude Belitzer because he applied this drug to horse-piroplasmosis). But we have heard many russian veterinarians say that they applied trypanblue injection both to south and north piroplasmosis. We will state here the work of Saikowitsch (as refering to the treatment of northwest piroplasmosis) who applied trypanblue in the government of Novgorod.

During 6 years he treated 678 animals (in 258 villages). The general percentage of mortality was 6,73 % (76 animals with a very severe form of the disease—20,02 % of mortality; 193 with a severe form—9,48 % of m. and 360 animals with an ordinary form—1,72 % o. m.).

Later on in 1922 under the pression of Yakimoff the veterinarian Potschesersky (in Petrogavodsk) undertook the treatment of the piroplasmosis by trypanblue. In collaboration with the veterinarian Toumanoff he treated 85 animals. The injection of the drug directly into the vein was executed only by 11 animals, the other 74 supported a simple subcutane injection. Nevertheless 76 of them recovered (89,4 %), t. i. nearly the same percentage of recovery as that of Saikowitsch.

Durind the south piroplasmosis coming from Piroplasma bigeminum the trypanblue treatment was applied by Yakimoff in Turkestan (1913). The general amount of treated animals was 21; the percentage of full recovery 100 %.

Saikowitsch's accounts of recovery are as follows; on the 2nd day recovered—21 animals, on the 3 rd—107 animals, on the 4th —47 animals, on the 5th—20 animals, from the 7th to the 10th —60 animals. Thus the greatest part (26,6 %) recovered on the 3rd day.

The doses of the drugs applied by different authors were as follows: Saikowitsch—5 grm. for each animal; Potschesersky and Toumanoff injected 200—350 ccm. of the 0,5 % solution into vein and 150—200 ccm. of the 0,5—1,5 % solution for the injection under the skin; Yakimoff (in Turkestan) 4—5 grm. into the vein.

Trypanblue can be applied with equally good results for piroplasmosis-treatment in both cases when it is excited by Piroplasms bigeminum or Babesiella bovis.

The second method of piroplasmosis-treatment is ichtargan. Schmidt (in Germany) was the first who applied it to be piroplasmosis of the catlte. In Finnland this drug is willingly adapted. Hinderson notes that the percentage of mortality with the appliement of this drug equals 1. Potschesersky says that the introduction of 1 grm. of ichtargan disolved in 25—30 ccm. of water produces a „magic effect". The urine becomes paler after 14—16—18 hours. Thus during 36 hours sometimes less, the urine becomes quite normal, with somewhat of a flocay sediment. Potschesersky treated 7 cows from 2—6 years old. Two of them had already supported light

form of the disease. From 2 to 4 dasy after the injection the temperature stays as a lingering fever; then it gradually falls. In two mortal cases, when the injection was fulfilled during low temperature (38,3 %) it fell very rapidly. Subcutane injection of ichtargan was applied to 7 cows; two of them died, five recovered; the author thinks that the injection was fulfilled too late in the case of the first two cows; it was executed on the 3rd day of the apparition of blood urine, when the temperature was 37—38° and the animal was strongly constipated. The urine cleared up only on the second, third and some times on the fourth day. The swellings that occur after the injection are one of the indesirable apparitions of this treatment. No abortions coming from the injection were noted, although 7 of the treated cows were pregnant. The general resume of the ichtargan treatment of Potschesersky is: that if the drug is not a falsification, if it is applied to young animals in the beginning of the disease when the temperature is high, if it is introduced into the vein in the quantity of 1 grm. it gives quick positive, sometimes even brilliant results.

We had at our disposition (in 1923) a certain amount of trypanblue and very little ichtargan. In one case of experimenti causa we adapted luargol; we will speak of this case later on.

We have already said (Chapter II), that in Kostroni there were 72 diseased animals. Ten of them died before our arrival, 62 were treated, 59 were treated with trypanblue, 2 with ichtargan and 1 with luargol. The drug was always introduced into vein. The dose of trypanblue was 3—5 grm., ichtargan and luargol per 1 grm. We give, later on, the durance of the disease by days without noting the case as „light" or „serious" form, because the durance itself shows the character of the disease.

I. Specific treatment.

The treatment with trypanblue.

We employed the trypanblue of Lucius Meister and Brünning (Höchst am Main) firm.

59 animals were treated with trypanblue introduced into the vein. The injection was fulfilled: on the 1st day (first day of the apparition of blood urine) on 48 (81,3 %) animals, on the 2nd on 1 (1,8 %) on the 3rd on 4 (6,7 %), on the 4th on 2 (3,3 %). Except that, 4 animals (6,9 %) were injected before the apparition of the blood urine because the clinic symptoms and the blood analysis (piroplasms) indicated piroplasmosis.

The results were as follows: 39 animals (81,7 %) of the general quantity of 48 treated on the first day recovered; 9 (18 %) died. 2 of them were killed, 1 of them perished thanks to the imperfectness of the injection; 1 animal treated on the 2nd day of the disease recovered; of those treated on the 3rd day—2 animals recovered and 2 died; 1 of them was killed; the animals treated on the 4th day died both. Those that were treated before the apparition of the blood urine (4) recovered.

The doses were: 1 animal (1,7 %) supported the injection of 2 grm., 42 animals (71,1 %) 3 grm., 1 animal (1,7 %) 4 grm., and 15 animals (25,4 %) 5 grm.

The temperature fell differently in different cases. Oftener of all, it fell after 48 hours (38,6 %), sometimes after 24 hours (36,3 %); but sometimes later: after 72 hours (4,5 %), after 96 hours (4,5 %), sometimes after 120, 148, 196 hours (each 2,2 %). In 6,8 % of all the cases a second injection was needed on the 2nd or 3rd day.

Oftener of all the temperature falls after 24—28 hours.

We must note here that in 41,3 % of the cases we marked (as did many other authors) that the temperature rises after the injection; but in 58,7 % of the cases it does not rise at all or else for a very short time.

Another symptom of the disease—the blood urine—undergoes the effect of trypanblue as well. The urine clears up in the space of 24 till 96 hours after the injection:

after	24	hours	(on the	second	day)	— 3 %
„	48	„	(„ „	third	„)	—36,3 %
„	78	„	(„ „	fourth	„)	—48,4 %
„	96	„	(„ „	fifth	„)	— 1,2 %

This shows that the urine rarely clears up on the first day; oftener of all this occurs on the third and fourth day after the injection of the drugs.

In the next chapters we will speak of the disappearance of the parasits from the peripheric blood.

After two-three days the animal becomes gay and begins to feed. But complete recovery comes very slowly because the regeneration of the blood takes a long time.

After the complete disappearance of all visible symptoms of the disease 20 animals (3,9 % that is 1/3 of all the treated ones) had once more high fever. This occurs not before 6 days (only once after 3 days) and not later than 17 days. Sometimes it rises very high (up to 41,7 %). Firstly we applied once more a trypanblue injection in small doses (1—2, rarely 3 grm.); but later on we seaced introducing the drug because after a couple of days the temperature falls itself without any therapic interveniance.

The jaundice stays the longest time of all (11 days).

We see here that the jaundice does not dissappear before 29 days; it can definitively dissappear after 43—44 days, but can stay still longer.

In 11 cases (18,5 %) after 17—35 days the hemoglobinury receded. In such cases the temperature sometimes rises (up to 40°), sometimes not. When the microscopic analysis of the peripheric blood was made, piroplasms were found, sometimes in great quantities (in one case 18 % of the red corpuscles were infected). This took place a recede of the disease. The quantity of the drug that was introduced is not responsible of this. The recede occured both when 3 and 5 gr. were injected. In such cases we firstly introduced once more a dose of 2—3 gr. of trybanblue, but later on we ceased doing so and the recede ended happily without any help from our side. As a rule these recedes end favourably and suggest no danger.

What correlation is there between the fall of the temperature and the disparition of the piroplasms from the peripheric blood and the clearing up of the urine? Table V given to illustrate this question.

Table V.

Nrs. of animals	Show many days after de commencement ofthe disease and the injection of specific means	Were there any recedes and how many days after it was the counting fal filled	Quantity of red corpuscles in 1 cmm
44	5	—	3 760 000
79	6	—	4 964 000
33	16	—	3 304 000
56	27	—	5 928 000
36	29	—	7 712 000
39	34	—	4 896 000
84	37	—	4 928 000
55	38	—	5 812 000
66	39/26	—	4 448 000
63	39	—	4 944 000
73	46	—	5 560 000
91	40	—	5 832 000
48	41	—	5 944 000
65	41/39	—	4 408 000
75	41/39	—	5 072 000
82	43	—	4 912 000
17	43	—	5 560 000
18	45	—	4 832 000
35	32	Rec. 2	3 584 000
103	32	„ 3	3 840 000
80	30	„ 5	3 486 000
58	43	„ 6	3 296 000
42	29	„ 10	5 032 000
28	39	„ 10	3 024 000
15	45	„ 30	3 632 000

The correlation between the dose of introduced trypanblue, the fall of the temperature, the disparition of piroplasms from the peripheric blood and the disparition of the hemoglobinury is different. The greater or smaller dose plays no role in the disparition of the symptoms. In 52,9 % of the cases the disparition of the parasites and the fall of the temperature comes at the same time. Sometimes (41,1 %) the temperature falls first and after that the parasites disappear, more rare are the cases (5,8 %) when the parasites disappear first and after that the temperature falls.

It is known that the hemoglobinury is the result of the operating of the piroplasms on the red corpuscles, therefore it would be interesting to know what correlation is there between the disparition of the piroplasms and the hemoglobinury. It appears that 17,6 % of the cases the disparition of the piroplasms precedes the disparition of the hemoglobinury, 58,8 % both these apparitions come at the same time and in 23,5 % of the cases the hemoglobinury disappears first and only after that the piroplasms disappear from the blood. The correlation between the fall of the temperature and the disparition of the hemoglobinury is as follows: that 48,1 % it occurs at the same time; the cases when

the temperature falls first and then comes the disparition of the hemoglobinury give the same percentage (48,1 %) and only 3,7 % give the cases when the hemoglobinury disappears before the fall of the temperature.

In regards to the correlation of all these three apparitions we can say that they disappear at the same time in 43,8 % of the cases; the cases when first the temperature falls, after that disappears the hemoglobinury and the piroplasms give 12,5 % the cases when the fall of temperature and the disparition of piroplasms come at the same time and after that the disparition of the hemoglobinury dissapears give 12,5 %; causes when the disparition of the hemoglobinury and the fall of temperature occur simultaneously and after that the piroplasms disappear give 18,7 %; and such when the temperature falls first and then piroplasms and the hemoglobinury disappear simultaneously, give 12,5 %.

The following ciphers will show us the successfulness of the treatment with trypanblue: 59 animals were treated; 46 (78 %) recovered and 13 (22 %) died. The percentage of mortality seems a rather high one; this subject needs some explainations.

We have already said that the best results are received when the injection is fulfilled on the first or second day of the disease; the appliance of the drug on the 3rd day gives less effective result; the injection on the 4th day is quite hopeless. We had treated two animals on the 4th day. One of them died, and one was killed as an incurable one. Thus these two animals may be considered as dead without any treatment.

Further on 3 more animals were killed. These three were also supposed to be hopeless thanks to the destruction of heart-function. This was done without the permission of Yakimoff. Therefore after this case, it was forbidden to kill the animals but to rouse the work of the heart with excitantia (alcohol, campher or ether).

Three others died not of the disease itself, but of one of the complication-constipation. Thanks to the complete absence of whatever purgative in the estate (not even Glauber salt) the animals perished from this complication. The dissection showed that the third ventricule (psalter) was full of dry food and as hard as a stone. Thus in all these 3 cases it is not the treatment that is responsible of the fatal end, but the complication of the disease that could not be removed in time.

If we add one more animal (that died from an accidental introduction of air into the vein during the injection) to these five that died not from the inefficacy of the specific treatment, but from the absence of the symptomatic one that is as indispensible as the specific treatment, we will see that only 4 cows (6,8 %) died from the inefficacy of the treatement with trypanblue.

After this explanation, we can conclude that the trypanblue treatment gives very good results and that our accounts are nearly identic to those of Novgorod.

One of the most disagreeable particularities of this treatment is the coloration of the animals tissues, as well as that of the hands of the operator in blue. The milk and the urine are coloured as well. The discolouration takes a more or less long time.

Our observations showed us that half an hour after the injection of 5 gr. of trypanblue the colouration was already to be seen. Two hours after the injection the cow gave blue milk. The discolouration took place after 17—38 days.

Does trypanblue free the organism of the piroplasms or not?

Some authors are inclined to think that it does not free the organism. We have noted that after 17—35 days a recede can occur with piroplasms in the blood (even in great quantities—18 % of infected red corpuscles).

Nuttall and Hadwen observed three cases in which the parasits reappeared after 5—6 days after their disparition under the influence of trypanblue (in small quantities that did not affect the full recovery of the animals); in two other cases they did not appear at all during 16—18 days. Theiler finds parasites again after recovery, but in smaller quantities, exciting no recede. Descazeaux noted as well recedes after 10—20 days, but with no fatal end. This author supposed that trypanblue destroyes the virulance of the piroplasms for a long time: such blood when injected is no more infective for healthy animals. It is possible that. Descazeaux' supposition is true. We undertook such an experiment. We injected 20 ccm of the blood of the cow Nr. 88 (fell ill on the 16/VI, supported an injection of 3 gr. in the vein) to a healthy cow Nr. 11—$1^1/_2$ month later (on the 30/VII) no infection occured.

There is one more question we would like to consider; one that interested Nuttall and Hadwen: is trypanblue of any preventive importance? A dog was injected with trypanblue; after 24 hours it was infected with Piroplasma canis. The investigation during 6—7 days showed no piroplasms. Meuleman thinks that trypanblue can hinder the apparition of the hemoglobinury with condition that the injection is fulfilled before the parasits appear in the blood or else before they have begun their destructive function on the red corpuscles the result of which is, the hemoglobinury.

We had 4 such cases, but the results were different;

Case I. Cow Nr. 100. Was separated from the rest on the 18/VI. General conduct that of a diseased animal. Temperature 40,9°. Piroplasms were found in the blood. On the same day (June 18) an injection of 3 gr. of trypanblue was fulfilled. On the next day the temperature 38,1° the blood urine appeared the same day but dissappeared after 48 hours.

Case II. Cow Nr. 55. Was separated from the rest on the June 21. Temperature 40,3°. Piroplasms were found in the blood. On the same day 5 gr. of trypanblue were injected. No blood-urine appeared during the next days.

Case III. Cow Nr. 37. Was separated from the rest on the June 2. The temperature was 40,3°. Piroplasms were found in the blood. On the same day 5 gr. of trypanblue were injected. No blood urine appeared during the next days.

Case IV. Cow Nr. 50. Was separated from the rest on the July 3. Temperature 40,6°. Piroplasms were found in the blood (0,7 % of infected red corpuscles). On the same day 5 gr. of trypanblue were injected. During the next days no blood-urine appeared, but on the July 9 the temperature rose up to 40,1° piroplasms appeared in the blood (15 % of infected red corpuscles). On this day 2 gr. were injected, no blood urine appeared; full recovery.

II. The treatment with ichtargan.

Ichtargan is a junction of silver and ichtyol (Argentum thiohydrocarbonurasulfonicum). In human medicine it was applied to the treat-

ment of gonorrhoea before it came to veterinarian practice. The drug is of the Ichtyol-Gesellschaft Cordes, Hermanni & Cie., Hamburg, Germany.

We applied this treatment to 3 animals (Nrs. 41, 90 and 103). The first two injections were fulfilled on the first day of the disease 1 gr. (into the vein). The 3rd case—0,8 gr. but this dose was unsufficiant.

The result of the injection was more effective than that of trypanblue: the temperature lowered on the next day. The urine cleared up on the next day by one animal, by the other after 48 hours.

Nevertheless by one cow the temperature rose an the 3rd day up to 39,3°, on the next day it was 39,7°; on the 4th day after the injection the coloured urine appeared; after 3 days it cleared up again, whithout any therapie interveniance. All these last days the temperature was a little higher than 38°.

III. The treatment with luargol.

This drug was prepared by Danysz in 1917. It is a junction of three metals: silver, arsenic and antimony (Poulenc frères, in Paris). It was biologically analysed by Yakimoff and Miss Wassilewsky; they found it equivalent to salvarsane; for the treatment of relapsing fever it is even more efficace (Yakimoff and Mme Solowzoff).

We applied this drug only to one animal (Nr. 40). The result of the treatment is even more effective than that of ichtargan; the temperature fell on the next day; the urine cleared up as well. No recede of the blood urine was noted.

It is absolutely desirable to introduce this drug into the practice of piroplasmosis-treatment.

2. The symptomatic treatment.

The symptomatic treatment is an indispensable complement to the specific one. Very often the specific treatment alone can give no positive results, the symptomatic one must be applied as well.

We have already said that two complications of the disease are generally present during the piroplasmosis: one comes from the intestines, it is the constipation; the other from the heart coming from the irregularity of its function and weakness. These apparitions are very dangerous ones, and sometimes they are responsible of the animals death. Even in the cases when the cause of the disease the piroplasms are removed, the constipation and the disturbed heart-function can lead to death. This can explain the death of some animals after the complete disparition of all visible symptoms of the disease and piroplasms from the blood. The cow Nr. 87 died thus; after 12—10 days, after the 1st and 2nd injection (5 and 2 gr.) of trypanblue the animal died suddenly. Nevertheless the urine was clear (after 72 hours), the temperature fell on the 5th day after the injection of the drug; 4 days before the animal's death the temperature rose again up to 40,9°.

The constipation begins on the first day of the disease, sometimes before that the animal suffers from diarrhoea. The constipation is sometimes so strong, that in mortal cases one finds the third ventricule

(psalter) as hard as a stone and full of dry food. By mechanically removing the excrement from the rectum one succeeds to pull out only small masses of dry dung covered with slime or blood. The animal strains itself without succeeding to reject anything from the anus.

In such cases stricts measures must be applied. Strong doses of Glauber salt (700—800 gr.), vegetable oil (2—3 bottles) must be given, the appliement of a clyster of warm soap water (under high pression) is also very effective. The purgatives must be given several times; until the intestines work regulary. If this is not done the animal is lead to death. Thus died 3 animals in Kostroni (absolute absence of purgative in the estate). The smears of the post mortem blood showed no piroplasms.

The food that is given, plays a great role in the regularising of the intestin-function. Dry food is generally recommended (good dry food with the addition of potatoes or turnip; Hutyra and Marek). The practicant veterinatians generally think as well that dry food is the best. This comes probably from the former perception that the disease is the result of pernicious grass. That is why instead of giving green food one chose hay, supposing that by drying the infection was destroyed. Now that it is known that the cause of the disease is not the food, one must no more avoid green food. Except that the dry food sustains the constipation, the green food is by itself a light purgative and therefore is to be especially recommended. During our practice we categorically forbade dry food (hay, grain) giving instead fresh grass considering it as one of the condition sine qua non of the resultness of the treatment of the disease. The appliement of any medecine that helps or gives rise to constipation must be absolutely forbidden. All astringents (oak-bark, tannine, especially Plumbum aceticum) are not only useless, but dangerous, because they sustain the constipation and inevitably lead to death.

The second complication - weakness of heart requires serious attention as well, it is the result of the toxines that the piroplasms work out. The dissection shows that the heart muscle is flabby, tarnished and dull as if it had been boiled. In such cases of heart-weakness we generally gave (after the injektion of trypanblue) 5 gr. of Fol. digitalis. The same dose is given after 48 hours; if it is further required once more after the next 48 hours.

Death from piroplasmosis takes place generally under apparitions of collapse; weakness and frequant pulse and critical falling of the temperature lower than the normal one. Our practice demonstrated that the introduction of chimiotherapic drugs generally leads to the lytic fall of temperature. We think such cases favourable. But the critic fall of temperature always produces a disagreeable oppression. These cases need strict surveyance of the heart function.

Cases with apparition of collapse are considered as hopeless; such animals are generally killed. This occured several times in Kostroni. We are inclined to think such cases not intirely hopeless. We have at our disposition several means and with their help we can stirr up the function of the heart (alcohol, camphor and ether). In applying them larga manu, we had the possibility of saving several animals by which the temperature was lower than the normal one and the pulse 100. We

applied alcohol half a bottle, 2—3 times a day (diluted in water). Camphor-oil was injected under the skin 60 ccm. 4—6 times a day. Both these means were adapted together. The result was a brilliant one; some of the animals, visibly quite hopeless were saved by them. Such a treatment must sometimes be applied during 2—3 days.

We once more recommend not to kill animals when their temperature falls low and their pulse is weak and frequent, but to try all the possible means and energically stirr up the heart function.

This is the scheme of the treatment of the piroplasmosis caused by Babesiella bovis.

1. Specific treatment. Trypanblue in the dose of 3—5 grm. ichtargan 1 grm. and luargol 1 grm. injected into the vein in the early stage of the disease.

2. Symptomatic treatment. a) Regulation of the function of the intestine: purgatives (Glauber salt 700—800 grm. pro dosis, vegetable oils 2—3 bottles, the appliement of clysters with warm soap-water, the scraping out from the rectum. b) Regulation of the heart-function: Fol. digitalis (5 grm. 2—3 every 48 hours) or Herba adonis vernalis (15 grm.) and in cases of collapse (low temperature, frequent and weak pulse) alcohol (1—$1^1/_2$ bottle), camphor oil or spirit (60 ccm 4—6 times a day) and ether-injection under the skin.

The food is to be fresh green grass, the stable cool and roomy with a soft bedding.

All astringent means are to be avoided (especially Plumbum aceticum).

After the recovery of the animal one must not forget that it has lost a great amount of red corpuscles, that it has grown meagre and weak. Therefore a reestablishing treatment must be undertaken. The first thing to do is to feed the animal with food rich in greace and albumen. Blood-reestablishing means are not to be forgotten. The subcutane injection of arsenic drugs (for ex. atoxyl pro 1—2 grm. daily under the skin during 10 days, 5—7 days of interruption and then once more the same treatment is to be applied; if needed a third treatment may be undertaken) and iron-drugs inwards (ferrum sulfuricum pro 5 grm. daily).

Summing up all we have said, we see that in the estate Kostroni out of the general amount of 62 animals that were treated only 4 (6,4 $_0/_0$) died thanks to the unsuccessfulness of the treatment. That is to say that the success of the treatment surpassed our expectations.

VIII.

Babesiella bovis in the peripheric blood of the cattle and the effect produced on them by chimiotherapic substances.

By Prof. **W. L. Yakimoff** and Miss **W. J. Wassilewsky** (†), assistant.

The apparition of piroplasms in the blood of the cattle always precedes the visible symptom of the disease—the hemoglobinury. In many

cases we deduced the percent of infected red corpuscles on the first day of the disease and on the days that followed after the appliement of chimiotherapic substances. This is illustrated by table VI.

Table VI.

Nrs. of animals	Before the injection of trypanblue and dose of trypanblue (in parenthesis)	After the injection after				
		24 hours	48 hours	72 hours	96 hours	120 hours
14	? (3,0)	2,7	.	.	.	.
17	7,0 (3,0)	4,0	small	0	.	.
19	17 (3,0)	.	.	.	.	.
21	13 (3,0)	1,0	0	.	.	.
29	3 (3,0)	1,3	0	.	.	.
31	? (3,0)	2,7	2	.	.	.
33	20 (5,0)	18,0	75,0	?	.	.
34	9,5 (5,0)	0,3	0	.	.	.
35	5,0 (3,0)	27—19	6,9	2,0	0	.
36	9,0 (5,0)	.	.	.	.	.
38	16,3 (3,0)	?	0	.	.	.
39	32,0 (3,0)	.	.	.	.	.
40	10,0 (L. 1,0)	10,0	4,3	0,3	0	.
41	11,0 (Icht. 1,0)	11,0	2,5	2,3	0	.
42	9,7 (5,0)	2,3	2,5	0	.	.
44	small (3,0)	.	.	.	.	.
45	7,0 (3,0)	.	.	.	.	.
47	11,0 (3,0)	9,0	1,7	0	.	.
48	7,9 (3,0)	.	.	.	.	.
54	8,0 (4,0)	7,7	6,0	0,7	0	.
56	0,7 (5,0)	0	.	.	.	.
57	5,0 (3,0)	.	.	.	.	.
58	11,0 (3,0)	0,25	0	.	.	.
59	8,0 (5,0)	7,7	6,0	9,7	1,0	0
62	3,0 (5,0)	.	.	.	.	.
63	1,7 (3,0)	.	.	.	.	.
64	8,0 (3,0)	.	.	.	.	.
66	22,0 (3,0)	.	.	.	.	.
68	11,7 (5,0)	9,7	1,7	0	.	.
71	5,0 (3,0)	.	.	.	.	.
74	20,0 (5,0)	3,0	small	0	.	.
76	6,0 (3,0)	.	.	.	.	.
79	16,3 (5,0)	.	.	.	.	.
80	18,0 (5,0)	31,0 (?)	.	.	.	.
81	16,7 (5,0)	14,5	0	.	.	.
82	8,0 (3,0)	.	.	.	.	.
83	15,0 (3,0)	4,5	small	0	.	.
85	12,0 (3,0)	.	.	.	.	.
87	19,0 (5,0)	19,0	2,7	7,0 (?)	0	.
90	1,7 (Icht. 1,0)	0	.	.	.	.
93	13,0 (3,0)	.	.	.	.	.
95	9,5 (3,0)	.	.	.	.	.
101	16,0 (3,0)	.	.	.	.	.
105	5,7 (3,0)	8,5	0	.	.	.
Bull	3,6 (5,0)	.	.	.	.	.

This table shows that the percent of infected red corpuscles on the first day of the hemoglobinury varies from 0,7 (56) to 32,0 (Nr. 39).

Except that this table shows that the dissappearance of the parasites under the effect of specific drugs occurs:

after 24 hours — 10 %
„ 48 „ — 35 %
„ 72 „ — 30 %
„ 96 „ — 20 %
„ 120 „ — 5 %

Thus in the most of cases the parasites dissappear after 48 hours, rarer after 96 hours and most rarely after 24 and 120 h. This difference does not depend from the dose of the drug: cases were noted when after the inoculation of 3 gr. no parasites were to be seen after 24 hours, on the other side after the inoculation of 5 gr. the parasites were to be seen in the blood for at least 72 hours.

The disparition does not depend as well from the degree of the infection, t. i. from the quantity of parasites in the blood. In some cases with an infection of 13 % after the inoculation of 3 gr. the piroplasms disappeared after 48 hours (cow Nr. 21), on the other hand cases were observed when the inoculation of 5 gr. (infection 3 %) purified the blood only after 120 hours (cow Nr. 59).

Neither the dose, neither the percent of the infected red corpuscles plays a role in the term during which the parasites dissappear from the peripheric blood.

Ichtargan expelled the piroplasms from the peripheric blood in 24 hours in one case and in 96 hours in another. The effect of ichtargan on all the other symptoms of the disease was more demonstrative, then the one that occurs after the appliement of trypanblue.

The day on which the injection is fulfilled (that is what the disease) plays no role in the dissappearance of the parasits from the blood. In all our cases the injection was adapted on the first day; as yet we can say nothing of the reason from which it depends.

Interesting as well is the dissappearance of the different forms of piroplasms under the influence of specific drugs. Nuttall and Hadwen were the first to note it, studying this question by dogs infected with Piroplasma canis, and then by the cattle infected with Piroplasma bigeminum. They consider this fact of great importance.

In the infected cattle that recovered spontaneously (without any treatment) the percent of infected red corpuscles falls, but the percent of piroplasms of the O forms (ringformed, oval single, pearformed and irregular) increases, the D forms (divising forms) increase as well, the percent of PP forms (pair pear formed ones) falls. In the blood of the animals—dead from piroplasmosis the percent O increases, PP does not become less and D does not disappear. In the blood of animals treated with trypanblue the forme D disappear first, them PP disappear and O increase.

Interested in this question we fulfilled of our cases, a similar investigation. But it is more difficult to work with Babesiella bovis than with Piroplasma bigeminum the former being much smaller than the latter. It is sometimes very difficult to differ the ringforms from the divising ones.

Ten animals were studied thus. On the first day of the disease the forms O, PP and D (we took the classification of the English authors) were (in % %) as follows (table VII).

Table VII.

Number of animals	87	47	42	83	33	45	74	40	41	80
Forms PP	24	22	12,2	18	19,3	18,8	16	11	11	18
„ OO	61	68	74,3	75	79,8	79,1	82	63	78	73
„ D	15	10	12,9	7	—	2,0	2	6	11	9

Circumstantially it will be thus:

Number of animals		87	47	42	83	33	45	74	40	41	80
Forms of protoplasms	Ringforms:										
	1	40	47	68,9	42	16,6	70,0	55	53	57	50
	2	5	5	1,7	5	10,6	6,6	8	5	1	5
	>2	2	—	—	—	1,3	—	4	—	—	—
	Lancettforms:										
	1	16	16	3,6	30	1,3	2,5	16	26	20	18
	2	24	22	12,2	18	19,3	18,8	15	11	11	18
	>2	—	—	—	—	0,6	—	—	—	—	—
	Ameboideforms: (divisingforms)										
	1	15	10	12,9	5	—	2,0	2	6	11	8
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1

Thus on the first day of the hemoglobinury the percent will be: PP 11—24, O 61—83 and D—O = 15.

Wat is the effect of the injection on these forms?

In all the animals treated with trypanblue D grows less and then disappears entirily. The percent of PP grows less; the percent of O increases. After the injection of ichtargan and luargol it is the same.

Our results seems to be quite identic to these of Nuttall and Hadwen.

These results fully explain the effect of chimiotherapic drugs during piroplasmosis.

In recedes with hemoglobinury and parasites in the peripheric blood the mouvement of the forms is somewhat different: in some moment the percent of PP forms increases the percent of O becomes less, but further on when the symptoms of the disease become weaker the percent of O increases, the PP percent becomes less.

Thus the specific drugs do not evidently kill the parasites they only prevent their further development; thanks to this the blood is freed of their presence little by little as well as of the effect of the parasites toxines.

This supposition is not in accord with some authors. For inst. Descazeaux thinks that the effect of trypanblue is to be explained by the neutralising of the toxines of the piroplasms, which is fulfilled by a strong phagocytary reaction. We are inclined to take the side of authors nevertheless.

IX.

The immunity during piroplasmosis.

By Prof. **W. L. Yakimoff** and stud.-vet. **M. F. Iwantschikoff** and **J. S. Oulassewitsch.**

It is practically proved that the cattle that has once suffered from piroplasmosis is further on immune (immunitas non sterilisans of German authors, premunition of Ed. Sergent et. coll). If such an animal is diseased once more the form of the disease is not so dangerous. The immunitv in such cases is not an absolution in the blood. Smith and Kilborne proved that Piroplasma bigeminum is still virulent in the blood for at least 74 days. Kossel, Weber, Schütz and Miessner transmitted the disease to susceptible cattle by injecting the blood of animals that had already recovered from piroplasmosis, that had been artificially produced by Babesiella bovis. The results were as follows:

The blood of an animal completely recovered (after 50 days) infected a healtly one. But the ailment took more time to come than in cases when the blood for the injection was taken from a diseased animal. The incubation period was 2 days—in the last case and 8—12 days in the first one; the apparition of parasites in the blood of the animal is accompanied with a small fever or even without it; the infection can be discovered only by microscopic investigation. In another case the blood was taken from an animal that had been infected by infected larvae; the blood was taken after 65.100.389 and 521 days. The injection of the blood taken after 65 days produced by the inoculated animal a fever of 4 days with hemoglobinury and parasites in the blood then it recovered. The second animal that was inoculated with the blood that was taken after 100 days, fell ill on the 9th day; the high temperature was during 3 days; piroplasms were found in the blood; no hemoglobinury. The injection of the blook taken after 389 days produced no rise of the temperature by two inoculated animals, but piroplasms were found in the blood; by one on the 13th day, by the other on the 10th one. After the injection of the blood taken after 531 days the fever of the inoculated animal rose on the 9th day and stayed during 4 days; piroplasms were found in the blood; no hemoglobinury. The quantity of injected blood as well as the method of injection (under the skin or in the peritoneum) plays no role in the issue of the inoculation.

Thus we see that the piroplasms are present in the blood even after the disparition of all the symptoms of the disease; it is possible that they can stay longer than the greatest term of the German authors (531 day).

This presence of piroplasms in the blood of recovered animals can have two results:

1. This prevents the animal from further infection by infectioned ticks (the immunity becomes even stronger).—2. Or else the parasites are able to develop again (under nuisible condition) and produce a dangerous effect.

As a rule the cattle that has already been diseased is considered immune and not susceptible to further infection.

Krogius and v. Hellens nevertheless note that the once diseased animal is not guaranteed against a new infection (Kossel and Weber).

We observed as well, that even after two recoveries the animal can be once more infected. Such cases were noted in the district of Lodeinoe Pole.

Case I. Cow of 10 years. Was diseased for the first time in May 1921. The second time in July 1923; it recovered.

Case II. Cow of 11 years. Fell ill for the first time being pregnant in August 1921; the second time in July 1923; it recovered.

Case III. Cow (heifer) of 1 year three months old. Was diseased as calf of 5 month in September 1922; the second time in July 1923; it recovered.

Case IV. Cow of 8 years old. Was diseased for the first time in August 1921; the second time in July 1923; it died.

Case V. Cow of $2^1/_2$ years old. Was diseased for the first time as calf of 6 months in 1921; for the second time in 1922; for the third time in July 1923; it recovered.

Two of these animals (Nrs. 3 and 5) were diseased as calves for the first time. They both were diseased once more in a years time. Nr. 5 was diseased in a years time once more. Both these animals recovered.

The other cows (Nrs. 1, 2, 4 and 6) were from 8 to 11 years old. Nrs. 1 and 4 were diseased twice, Nr. 2 fell ill for the second time after 2 years, Nr. 6 was diseased every year during three years. Nrs. 1, 2 and 6 recovered, Nr. 4 died.

What are these cases of disease? Reinfections or recedes? It is difficult to answer this question. We have already seen that the blood remains infected even after 531 days. Equally the disease coming back every year during three years does not suggest a reinfection. One case that we observed in Kostroni clearly shows that it was a recede, but no reinfection. The cow Nr. 34 recovered, but after $^1/_2$ a month, a recede took place (with 9,5 % of infected red corpuscles).

Thus we can speak only of a relative immunity. This immunity does not guarantee the animal from a recede (because we cannot constate here a reinfection); nevertheless in the most of cases the recedes give no fatal end.

No hereditary immunity can be noted as well. Thus the cow Nr. 2 was diseased being pregnant. But the calf that was born was diseased twice: once as a calf of 5 month, the second time at the age of a year and 5 month. In another case a pregnant cow was diseased in 1922; the calf that was born suffered from piroplasmosis when it was 4 months old.

X.

Epizootologie of the north-west piroplasmosis.

By Prof. **W. L. Yakimoff** and stud.-vet. **M. F. Iwantschikoff** and J. S. Oulassewitsch.
and **J. S. Oulassewitsch.**

I. In Istomitzy (district of Luga, of the government of Petrograd) the cattle is diseased not in the spring soon after it is sent to pasture, but in midd-summer during the heat. This is to be explained by the difference of pasture. The first spring-

pasture is more elevated than that of the summer. The second pasture is near the river and is kept for hay. When the grass has been mown (in the middle of the summer) the cattle is sent to the second low and damp pasture. After this it suffers from piroplasmosis. This is very explainable: the high pasture is a dry one with very small quantities of ticks, the low and damp one is full of them.

II. Volostnoi Navolock (district of Lodeinoe-Pole) did not suffer of piroplasmosis at all until 1923. In Peldoje that lies about 4—5 miles further, this disease exists since many years. In 1923 the flocks of both these villages came together after what the first cases of piroplasmosis appeared in the flock of Volostnoi Navolock.

III. We have already said (chapter II) that in the estate Kostroni the mortality from piroplasmosis (of the cattle brought from Yaroslav where the piroplasmosis is absent) is 63,7 %. We give here the accounts of the district of Lodeinoe Pole of the diseases of animals imported from other places with no piroplasmosis.

1. Cow from the village Ostrov; imported from Rosmiagi (no piroplasmosis); died.
2. Cow from the Ostrov; imported from Veliki Navolock (no piroplasmosis); died.
3. Cow from Ostrov; imported from Veliki Navolock; died.
4. Cow from v. Ostrov; imported from Orenburg (no piroplasmosis); recovered.
6. Cow from v. Ostrov; imported from Karelia (no piroplasmosis); died.
7. Cow from v. Ostrov; imported from Vajiny (no piroplasmosis); died.
8. Cow from v. Ostrov; imported from Veliki Navolock; died.
9. Cow from v. Ostrov; imported from Lodeinoe Pole (no piroplasmosis); died.
10. Cow from v. Peldoji; imported from Lodeinoe Pole (no piroplasmosis); died.
11. Cow from v. Ostrov imported from Lodeinoe Pole (no piroplasmosis); died.
12. Cow from v. Peldoji; imported from Rosmiagi (no piroplasmosis); recovered.

12 animals fell ill; 9 of them died (75 %).

This account shows the same as in the estate Kostroni, that the percent of mortality of the imported cattle brought from a region free from piroplasmosis is much higher than that of the local one. The local cattle contains a certain amount of animals that have supported the disease already in early days and therefore they support the recede much easier and give a lower percentage of mortality.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage der Herstellung hochwertiger, spezifischer präzipitierender Sera für forensische Zwecke.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (Stellvertr. Dir.: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Gertrud Meißner**, Assistentin am Institut.

Bei der Herstellung präzipitierender Eiweißantisera für forensische Zwecke erweist sich das häufige Auftreten von unspezifischen Reaktionen in Antigenverdünnungen von mehr als 1:100 als sehr störend; immer wieder neue Tiere in Behandlung zu nehmen, ist zeitraubend und steigert die Herstellungskosten außerordentlich.

Ueber die Ursache dieser Erscheinung ist noch nichts Sicheres bekannt. Manteufel und Beger beobachteten gehäuftes Auftreten

von Präzipitinen, die auf andere als homologe oder mit diesem verwandte[1]) Antigene übergriffen, erstens in den Wintermonaten, zweitens bei schlecht genährten Tieren und drittens bei Kaninchen, die erst nach wiederholten Antigeninjektionen (mehr als 3) die gewünschte Titerhöhe erreichten. Diese Befunde konnten von Verfasserin in einer früheren Mitteilung bestätigt werden. Die Frage der Ernährung wurde bei uns allerdings nicht näher geprüft, da alle Tiere ausreichend ernährt schienen; außerdem bildeten bei uns große, ältere Tiere seltener übergreifende Antisera als nicht ausgewachsene.

Die seit 1923 in unserem Institut hergestellten präzipitierenden Antisera bestätigten die damals gefundenen Ergebnisse zum großen Teil. Die Technik gestaltete sich wie früher:

Ausgewachsene Kaninchen wurden in Abständen von 3 Tagen mit je 1 ccm frischem (nativem) Serum i. v. gespritzt, Prüfung 8 Tage nach der letzten Injektion; bei einem Titer von 1:20000 Entblutung des Tieres nach 1tägigem Hungern; sonst noch ein oder mehrere weitere Injektionen mit nachfolgender Titration wie anfangs. Zur Prüfung wurde stets die Ringprobe benutzt mit Ablesung nach $^1/_4$ Std.

Von 83 mit nativem Serum gespritzten Tieren, bei denen die Behandlung zu Ende durchgeführt werden konnte, erzielten 65 (78,3 Proz.) einen Titer von 1:20000, während 23 (21,7 Proz.) niedrigere Werte aufwiesen. Von diesen 65 hochwertigen, sogenannten Nativantiseren waren 35 (53,8 Proz.) absolut spezifisch, 30 (46,2 Proz.) dagegen gaben unspezifische Reaktionen. Hiervon hatten 17 (56,7 Proz. der unspezifischen Antisera) einen übergreifenden Titer von 1:100, so daß sich im ganzen 52 (80 Proz.) für den Versand als brauchbar ergaben; 8 (26,7 Proz.) griffen bis 1:1000 auf nicht homologe Antigene über, 1 (3,3 Proz.) bis 1:10000, während 4 (13,3 Proz.) bis 1:20000 unspezifische Reaktionen gaben. Die jetzt gefundenen Werte stimmen also annähernd mit den früher veröffentlichten überein. Die Verteilung auf die einzelnen Antiserumarten zeigt Tab. I.

Tabelle I.
Uebersicht über die Nativ-Antisera.

Antiserum gegen	Anzahl	absolut spezifisch	unspezifisch				unspezifisch im Ganzen
			Antigenverdünnungen von				
			1:100	1:1000	1:10000	1:20000	
Mensch	13	7	4	2	0	0	6
Rind	7	3	2	1	0	1	4
Ziege	3	2	1	0	0	0	1
Hammel	7	4	3	0	0	0	3
Pferd	8	7	0	1	0	0	1
Schwein	6	2	3	0	0	1	4
Reh	2	0	1	0	0	1	2
Hund	6	1	1	3	1	0	5
Katze	5	1	2	1	0	1	4
Huhn	5	5	0	0	0	0	0
Gans	2	2	0	0	0	0	0
Ente	1	1	0	0	0	0	0
Summe	65	35	17	8	1	4	30
Prozentzahl		53,8 Proz.	26,2 Proz.	18,3 Proz.	1,5 Proz.	6,2 Proz.	46,2 Proz.

1) „Verwandte“ Antigene sind Sera von Tieren, die der gleichen oder einer nahestehenden Tierfamilie angehören.

„Heterologe“ Antigene dagegen entsprechen Seren von Tieren, die im zoologischen System von dem zur Injektion verwandten, dem „homologen“ Antigen, mehr oder weniger weit entfernt stehen.

Auch bei der jetzigen Zusammenstellung zeigte sich in Bestätigung der Versuche von Manteufel und Beger und der früheren, eigenen Versuche, daß die Jahreszeit bei der Bildung der unspezifischen Präzipitine eine Rolle spielt. Vgl. Tab. II.

Tabelle II.

Jahreszeit und übergreifende Präzipitine.

Zeit der Behandlung	1. Novbr. bis 30. April	1. Mai bis 31. Oktober
Gesamtzahl der beh. Tiere	24	40
spezifisch	10 = 41,7 Proz.	25 = 62,5 Proz.
unspezifisch	14 = 58,3 „	15 = 37,5 „

In den Monaten Mai bis Oktober, in denen frisches Gras gefüttert wurde, ergaben sich bei 40 Tieren nur 15 (37,5 Proz.) übergreifende Antisera gegenüber 58,3 Proz. von Oktober bis 1. Mai bei einer Fütterung von Heu und Kohlrüben.

Das Gewicht hatte diesmal keinen Einfluß auf die Bildung von heterologen Präzipitinen, s. Tab. III.

Tabelle III.

Gewicht und übergreifende Präzipitine.

Gewicht	unter 2000 g	über 2000 g
Gesamtzahl der beh. Tiere	23	31
spezifisch	12 = 52,2 Proz.	17 = 54,8 Proz.
unspezifisch	11 = 47,8 „	14 = 45,2 „

Auch dem Geschlecht möchte ich keine größere Bedeutung beilegen, da die Unterschiede verhältnismäßig gering und besonders die Zahlen für die männlichen Tiere recht klein sind, s. Tab. IV.

Tabelle IV.

Geschlecht und übergreifende Präzipitine.

Geschlecht	männlich	weiblich
Gesamtzahl der beh. Tiere	16	26
spezifisch	7 = 43,8 Proz.	14 = 53,8 Proz.
unspezifisch	9 = 56,2 „	12 = 46,2 „

Daß aber neben der Jahreszeit das Auftreten der übergreifenden Präzipitine in hohem Maße von der Zahl der zur Erreichung eines Titers von 1:20000 erforderlichen Injektionen abhängig ist, konnte auch in dieser Versuchsreihe bestätigt werden, wie aus Tab. V hervorgeht.

Tabelle V.

Zahl der Injektionen und übergreifende Präzipitine.

Zahl d. Injektionen	3	4	5	6 u. mehr
Gesamtzahl der beh. Tiere	13	18	28	6
spezifisch	11 = 84,6 Proz.	8 = 44,4 Proz.	16 = 57,1 Proz.	1 = 16,7 Proz.
unspezifisch	2 = 15,4 „	10 = 55,6 „	12 = 42,9 „	5 = 83,3 „

Von 13 3mal gespritzten Tieren waren 11 (84,6 Proz.) spezifisch, nur 2 (15,4 Proz.) griffen auf heterologe Antigene über; bei 4 Injektionen gaben von 18 Tieren nur 8 (44,4 Proz.) absolut spezifisches Antiserum, 10 (55,6 Proz.) dagegen unspezifische Reaktionen.

Man kann anscheinend 2 Gruppen von Kaninchen unterscheiden: Tiere, die verhältnismäßig schnell einen hohen Titer bekommen — bei ihnen genügen in der Regel 3 Injektionen; wenn der Titer dann noch nicht ganz die gewünschte Höhe erreicht hat, wirkt eine 4. häufig schon zu stark, das Serum präzipitiert dann das homologe Antigen bis 20000 sehr gut, aber auch schon heterologe Sera in mehr oder weniger starken Verdünnungen —, und Tiere, die langsamer reagieren, bei denen 5 Injektionen das Normale bedeuten; allerdings kommt hier gegenüber den 3mal gespritzten ein höherer Prozentsatz (42,9 Proz.) übergreifender Antisera heraus, aber er ist geringer als bei denen, die mit 4 Injektionen einen Titer von 1:20000 erreicht haben (55,6 Proz.). Bei mehr als 5 Injektionen sind jedoch die Aussichten auf ein spezifisches Antiserum sehr gering, da von 6 Seren nur 1 (16,7 Proz.) spezifisch war, während 5 (83,3 Proz.) übergriffen.

Wegen dieses fast konstanten Auftretens von unspezifischen Präzipitinen bei mehrfach wiederholten Antigeninjektionen sind auch alle Versuche, die Antiserumherstellung rationeller zu gestalten, wenig aussichtsreich. Obgleich man von manchen Antiserumarten — von jedem Tier werden etwa 30—40 ccm Serum geliefert — immer nur wenige ccm verbraucht, müssen spätestens jedes Jahr neue Tiere angesetzt werden, da nach $^3/_4$—1 Jahr der Titer des Antiserums sinkt, so daß es für den Versand unbrauchbar wird. Bull und King geben eine Methode an, nach der die gleichen Tiere öfters benutzt werden können, aber diese bot von vornherein wenig Aussicht auf Erfolg: Kaninchen erhalten 4 intravenöse Injektionen von je 5 ccm Serum in Zwischenräumen von je 2 Tagen, 9—12 Tage nach der letzten Spritze Entnahme von 50 ccm Blut, 2 Tage darauf Entnahme der gleichen Blutmenge. Nach einer Woche Ruhepause Wiederholung der intravenösen Injektionen und Blutentnahme wie oben. Wiederholt konnten Kaninchen bis zu 5 Serien und 5malige doppelte Blutentnahme vertragen.

Auf unspezifische Präzipitine haben die Autoren ihre Antisera nicht geprüft, sie berichten nur über häufig auftretende, „multiple" oder „gekreuzte" Reaktionen, die sie durch sehr frühes Ablesen auszuschalten suchten. Diese Reaktionen sind nach ihrer Meinung eine Folge der verschiedenen, zum Teil recht hohen Antigenkonzentrationen in ihren Versuchen; sie benutzten als Antigen Blut aus dem Magen von Moskitos, das sie auf kleinen Fließpapierstückchen hatten antrocknen lassen und dann mit 6—7 Tropfen physiol. NaCl-Lösung aufgeschwemmt

hatten. Natürlich waren die Antigenmengen nicht gleich, entsprechend der verschieden großen Blutmenge, die die Moskitos gesaugt hatten. Man geht aber sicher nicht fehl, wenn man ihre „gekreuzten" Reaktionen als übergreifende Präzipitationen anspricht.

Zur Nachprüfung habe ich 7 Kaninchen auf diese Art behandelt; allerdings habe ich den Zwischenraum zwischen den einzelnen Serien mindestens auf 2 Monate verlängert, da ich fürchtete, sonst nur übergreifende Antisera zu bekommen. 2 Tiere ergaben keinen ausreichenden Titer, 2 zeigten nach der 1. Serie schon übergreifende Präzipitine in Antigenverdünnungen von 1:100 bzw. 1:1000 und wurden deshalb nicht weiter gespritzt, nur 3 hatten einen spezifischen Titer von 1:20000. Von diesen starben 2 vor Beginn der zweiten Serie an Pleuritis und Pericarditis, nur 1 Tier erhielt nach 2 Monaten Pause die 2. Injektionserie mit dem Erfolg, daß es auf 4 Antigene bis 1:100 übergriff und auf das 5. bis 1:1000 schwach. Die Behandlung wurde aus diesem Grunde nicht fortgesetzt. Siehe Tab. VI.

Tabelle VI.

Serienweise Immunisierungsversuche nach Bull und King.

Kaninchen Nr.	Antiserum gegen	1. Serie			Intervall	2. Serie			Bemerkungeu
		Zahl der Injekt.	Titer spez.	Titer unspez.		Zahl der Injekt.	Titer spez.	Titer unspez.	
H 49	Mensch	4	20000	0	.	.	.	.	† vor Beginn der 2. Serie
H 69	„	4	1000	0					
H 64	Rind	4	1000	0	.	.	.	.	kein Titer, daher nicht weiter behandelt
H 65	„	4	20000	10000 ± 100	.	.	.	.	unspez. Präzipitine, daher nicht weiter behand.
H 67	Hammel	4	20000	100					
H 71	Pferd	4	20000	0	.	.	.	.	† vor Beginn der 2. Serie
H 56	Schwein	4	20000	0	2 Mon.	4	20000	100 1000 ±	—

Da ich den Eindruck hatte, daß die Tiere so große Serummengen schlecht vertrugen, habe ich eine weitere Reihe von 4 Tieren mit nur je 1 ccm in 3tägigen Zwischenräumen gespritzt und auch nicht jedes Tier ohne Ausnahme 4mal, sondern nur so oft, bis der Titer von 1:20000 gerade erreicht war. Siehe Tab. VII.

Tabelle VII.

Serienweise Immunisierungsversuche mit modifizierter Technik.

Kaninchen Nr.	Antiserum gegen	1. Serie			Intervall	2. Serie			Intervall	3. Serie		
		Zahl der Injekt.	Titer spez.	Titer unspez.		Zahl der Injekt.	Titer spez.	Titer unspez.		Zahl der Injekt.	Titer spez.	Titer unspez.
H 30	Pferd	5	20000	0	6 Mon.	3	20000	0	2 Mon.	2	20000	1000
H 48	Mensch	4	20000	0	3 Mon.	3	20000	1000	nicht weiter behandelt			
H 36	Huhn	5	20000	0	2 Mon.	2	20000	0	4 Mon.	3	20000	0
H 42	Gans	5	20000	0	3 Mon.	3	20000 ±	0	nicht weiter behandelt			

Dabei gelang es, bei dem Kaninchen H 30 nach einem Intervall von 6 Monaten durch 3malige Injektion von je 1 ccm Pferdeserum einen spezifischen Titer von 1:20000 zu erzielen, nach weiteren 2 Monaten traten aber im Anschluß an 2 Injektionen positive Reaktionen mit 3 unspezifischen Antigenen bis 1:1000 auf. Das Menschenantiserumtier H 48 zeigte schon bei der zweiten Serie von 3 Injektionen nach 3 Mon. Pause Uebergreifen auf 3 heterologe Sera bis 1:1000. Anders scheint es dagegen bei den Geflügelantiseren zu sein, die überhaupt sehr viel seltener unspezifische Präzipitine aufweisen — alle 8 mit nativem Serum hergestellten Antisera waren spezifisch —. Bei Kaninchen H 36 gelang es, bei der zweiten und auch bei der 3. Serie unspezifische Präzipitine gegen Hühnerserum zu erhalten, bei H 42 wurde bei der 2. Serie nach 3 Monaten Pause und 3 Injektionen auch ein spezifischer, wenn auch nicht ganz ausreichender Titer erzielt.

Es ergibt sich also, daß bei der Herstellung von Säugetierantiseren die nochmalige Benutzung früher schon behandelter Tiere — bei Verwendung von nativem Serum — wegen des Auftretens von unspezifischen Präzipitinen abgelehnt werden muß; bei Geflügelantiseren dagegen scheint diese Gefahr gering zu sein, die Methode der serienweisen Injektionen und Blutentnahmen mit dazwischen liegenden Pausen kann, soweit eine Beurteilung nach dem vorliegenden Material möglich ist, zur sparsamen Gewinnung von Geflügelantiserum jedenfalls empfohlen werden.

Versuche, die unspezifischen Präzipitine durch Ausfällung der Antisera mit den entsprechenden oder anderen Antigenen oder mit physikalischen Adsorbentien zu beseitigen, sind schon häufig gemacht worden (Ascoli, Bertarelli, Obermayer u. Pick, Kister u. Weichardt, Liepmann, Friedberger u. Collier, Friedberger u. Jarre, Manteufel u. Beger, Friedberger u. Meissner, Beger, Ilchun Yu), jedoch ohne daß sich für die Praxis brauchbare Resultate ergeben haben.

Aussichtsreicher erschienen Versuche, durch geeignete Vorbehandlung die Antigene so zu verändern, daß sie nur zur Bildung von spezifischen Präzipitinen führen können; Friedberger u. Lasnitzki und neuerdings E. K. Wolff halten, in Analogie zu der Entstehung der heterogenetischen Ambozeptoren Forssmanns, Lipoide oder lipoidähnliche Stoffe im Antigen für die Ursache der übergreifenden Präzipitine. Da diese Stoffe alkohollöslich sind, versuchten Manteufel u. Tomioka durch Alkoholextraktion von wässerigen Fleischauszügen nach Tsukasaki wirksame Antigene zur Herstellung hochwertiger, präzipitierender Antisera zu gewinnen. Die so erhaltenen Antisera sind weitgehend spezifisch, sie stehen in Bezug auf die Spezifität den später zu erwähnenden, durch kochkoaguliertes Eiweiß erzielten nicht nach, sind ihnen an Wirksamkeit vielleicht sogar überlegen. Die Frage der Verwandtschaftsreaktionen wurde bei dem kleinen Material nicht einwandfrei gelöst.

Dasselbe läßt sich nach Rosenberg durch das Hitzealkaliantigen von Schmidt erreichen; die Antisera nach Schmidt zeigen ebenfalls hochgradige Spezifität, die nur bei ganz hochwertigen Antiseren etwas zu wünschen übrig läßt. Eine bemerkenswerte Einengung der Verwandtschaftspräzipitine konnte Rosenberg auch

hier nicht beobachten. (Schmidt selbst beschränkt die Brauchbarkeit seiner Hitzealkaliantisera auf Prüfung mit erhitztem Antigen).

Fujiwara verwandte kochkoaguliertes Antigen, das nach folgender Technik hergestellt wurde:

Frisches Serum wird mit dem 10fachen Volumen sterilen destillierten Wassers, mit $^1/_5$ Gesamtvolumen gesättigter NaCl-Lösung und einigen Tropfen 50proz. Essigsäure versetzt und im Wasserbade bis zur vollständigen Ausfällung des Eiweißes gekocht. Der Niederschlag wird auf Fließpaier gesammelt und, nachdem das Wasser durch Ausdrücken entfernt ist, unter Toluol aufbewahrt. 0,02 g dieser Masse werden im Mörser unter tropfenweisem Hinzufügen von 2 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung zu einer gleichmäßigen, feinen Emulsion verrieben und jeden 2. oder 3. Tag Kaninchen i. v. injiziert.

Aus Fujiwaras Protokollen geht hervor, daß die so gewonnenen Antisera hochwertig und absolut familienspezifisch waren, ja daß sogar bei Menschenantiseren eine so hochgradige Artspezifität zu beobachten war, daß sie mit Affenserum gar nicht oder nur sehr wenig reagierten. Fornet u. Müller beschrieben dagegen bei ihren Antiseren, die mit 5 Min. auf 80° erhitzten Fleischauszügen hergestellt waren, häufige unspezifische Reaktionen bis 1:100.

Die Versuche Fujiwaras wurden von Manteufel u. Beger an 8 Antiseren nachgeprüft und zwar an 2 Schweine-, 3 Rinder-, 2 Pferde- und 1 Menschenantiserum. Die Autoren konnten das Fehlen der heterologen Präzipitine bestätigen, fanden aber bei den 3 Rinderantiseren innerhalb der Rind-Ziege-Hammelgruppe keinen geringeren Verwandtschaftstiter als bei mit nativem Antigen hergestellten Antiseren dieser Gruppe. Die Reaktion selbst fällt nach Angabe von Fujiwara und Beger (berichtet bei Manteufel u. Tomioka) etwas weniger voluminös, aber ebenso scharf aus und tritt häufig etwas verzögert auf, so daß die Beobachtungszeit auf 30 Min. verlängert wurde. In der Technik richteten sie sich nach Fujiwara, kamen aber ebenfalls mit größerer Dosis und geringerer Injektionszahl zum Ziel (5mal 0,5 g und 4mal 1,0 g in 5 ccm NaCl).

Bruynoghe führt die geringere Präzipitatbildung bei Prüfung von Antiserum, das mit gekochtem Antigen hergestellt ist, gegen natives Serum auf eine Veränderung der Natur des Antigens zurück. Denn mit Antigen, das er mit dem 5fachen Volumen Aq. dest. versetzt und dann bei 100° oder bei 120° im Autoklaven gekocht hatte, erhielt er stets eine starke Reaktion. Seiner Meinung nach kommt auch eine direkte Beeinflussung der Spezifität bei Behandlung mit gekochtem Antigen nicht in Frage. Unspezifische Reaktionen treten nur weniger auf wegen der geringeren Wirksamkeit solcher Antisera auf natives Serum. Er hat jedoch seine Antisera nicht auf Uebergreifen gegenüber heterologen gekochten Antigenen geprüft.

Seit 2 Jahren werden auch an unserem Institut regelmäßig Tiere mit kochkoaguliertem Serum behandelt. Nachdem die ersten Schwierigkeiten der Technik überwunden waren — infolge zu großer Dosen gingen anfangs bis zu 75 Proz. der Kaninchen an Embolie ein, andererseits zog sich bei den von Fujiwara und Manteufel u. Beger angegebenen

Mengen von 0,02 g die Behandlung so in die Länge, daß sie für die Praxis sehr zeitraubend wurde —, ergab sich uns als brauchbare Methode die 12—15malige intravenöse Injektion von 0,2 g kochkoagulierten Serums in 10 ccm physiol. NaCl-Lösung in 2tägigen Zwischenräumen. 8 Tage nach der letzten Injektion Prüfung der Titerhöhe mit nativem Antigen und eventuell Entblutung des Tieres, oder, falls das Antiserum noch nicht hochwertig genug war, noch weitere 3—5 Injektionen mit nachfolgender Prüfung und Entblutung.

Von 34 Kaninchen, bei denen die Behandlung bis zu Ende durchgeführt werden konnte, ergaben 27 (79,4 Proz.) einen Titer von 1:20000, während 7 (20,6 Proz.) niedrigere Titer aufwiesen, Zahlen, die ungefähr denen bei der Behandlung mit nativem Serum entsprechen. Leider konnte die Angabe von Fujiwara und Manteufel u. Beger, daß bei kochkoaguliertem Serum keinerlei unspezifische Präzipitine auftreten, nicht ganz bestätigt werden. Eine Zusammenstellung aller mit kochkoaguliertem Serum nach Fujiwara hergestellten Antiseren gibt Tab. VIII.

Tabelle VIII.

Uebersicht über die mit kochkoaguliertem Antigen hergestellten Antisera.

Antiserum gegen	Anzahl	Absolut spezifisch	Unspezifisch Antigenverdünnungen		Unspezifisch im Ganzen
			1:100	1:1000	
Ziege	4	1	3	0	3
Hammel	2	2	0	0	0
Rind	1	1	0	0	0
Reh	4	4	0	0	0
Hirsch	4	4	0	0	0
Hund	2	0	1	1	2
Pferd	1	1	0	0	0
Schwein	1	1	0	0	0
Ente	4	4	0	0	0
Gans	4	4	0	0	0
Summe	27	22	4	1	5
Prozentzahl		81,5 %	14,8 %	3,7 %	18,5 %

Bei 2 Hundeantiseren wurden, wie auch regelmäßig bei Nativ-Hundeantiseren, übergreifende Präzipitine gegen Katzenserum bis 1:100, resp. 1:1000 gefunden, gleichzeitig aber auch bei der Antigenverdünnung 1:100 von Mensch, Pferd, Rind, Schwein und Huhn. Scimone u. Torii geben zwar an, daß sich mit gekochtem Antigen spezifische Hunde-, resp. Katzenantisera herstellen ließen; ihre Protokolle sind aber nicht beweisend, da die beschriebenen Antisera nur einen Titer von 1:1000 haben. Ebenso traten bei 3 mit Ziegenserum gespritzten Tieren übergreifende Präzipitine auf: In Serum H 165 für Mensch bei 1:100; in Serum H 164 für Mensch, Hund und Schwein bei 1:100 und in Serum H 146 für Pferd, Mensch und Schwein bei 1:100.

In Bezug auf die Spezifität ergibt sich aber doch ein großer Vorteil zugunsten der mit kochkoaguliertem Serum gewonnenen Antisera mit 81,5 Proz. gegenüber nur 53,8 Proz. bei mit Normalserum hergestellten Antiseren.

Ob im Zusammenhang mit der geringeren Präzipitatmenge auch ein früheres Sinken des Titers gegenüber Nativantiseren eintritt, konnte noch nicht sicher festgestellt werden, in manchen Fällen hatten wir jedoch diesen Eindruck.

Was die Frage der Verwandtschaftspräzipitine betrifft, so muß ich im Gegensatz zu den Protokollen Fujiwaras die Angaben von Manteufel u. Beger bestätigen. Auch bei uns konnten bei Prüfung mit verwandten Antigenen im Durchschnitt keine niedrigeren Titer beobachtet werden als bei Nativantiseren.

Zur Beantwortung dieser Frage wurden Geflügelantisera und Antisera aus der Rind-Ziege-Hammel-Hirsch-Reh-Gruppe untersucht.

Unterschiede in der Höhe der Präzipitation von Gänse- und Entenserum, zweier ganz nahe stehender Tierarten, sind in den meisten Fällen gar nicht, nur bei 2 Seren in ganz geringem Maße vorhanden, kommen also für eine praktische Differenzierung der beiden Geflügelarten nicht in Betracht. Das Huhn dokumentiert seine etwas entferntere Verwandtschaft mit Gans und Ente in vielen Fällen durch eine niedrigere Verwandtschaftsreaktion; jedoch bestand kein Unterschied zwischen den Tieren, die mit nativem und denen, die mit kochkoaguliertem Serum behandelt waren. Vgl. Tab. IX.

Tabelle IX.

Verwandtschaftspräzipitine bei Geflügelantiseren.

Nativ-Antiserum		Titer bei Prüfung mit Antigen			kochkoaguliert. Antiserum		Titer bei Prüfung mit Antigen		
gegen	Nr.	Huhn	Gans	Ente	gegen	Nr.	Huhn	Gans	Ente
Gans	H. 42	10 000 ±	**20 000**	nicht angesetzt	Gans	H. 86	nicht angesetzt	**20 000**	20 000 ±
„	„ 80	10 000	**20 000**	10 000	„	„ 92	nicht angesetzt	**20 000**	20 000 ±
Huhn	„ 28	**20 000**	10 000 ±	10 000 ±	„	„ 130	1 000	**20 000**	20 000
„	„ 36	**20 000**	20 000	20 000	„	„ 131	20 000	**20 000**	20 000
„	„ 169	**20 000**	20 000	20 000	Ente	„ 94	nicht angesetzt	20 000	**20 000**
„	„ 170	**20 000**	1 000	1 000	„	„ 133	20 000	20 000	**20 000**
					„	„ 136	20 000	20 000	**20 000**

Noch schlechter liegen die Verhältnisse in der Gruppe Rind-Ziege-Hammel. Berechnet man den Durchschnittswert der Präzipitation aus allen geprüften Antiseren — wenn es zulässig ist, bei der verschiedenen Zahl der einzelnen Antisera und dem doch immerhin nicht ganz gleichen Verwandtschaftsgrade solche Schlüsse zu ziehen — so ergibt sich für die mit Nativserum hergestellten Antisera der Wert von 1:12300, für die mit kochkoaguliertem Antigen dagegen 1:14477, also sogar ein etwas höherer Durchschnittstiter. Die genauen Werte zeigt Tab. X.

Tabelle X.
Verwandtschaftspräzipitine bei Rind-Ziege-Hammel-Antiseren.

Nativ-Antiserum		Titer bei Prüfung mit Antigen			kochkoaguliert. Antiserum		Titer bei Prüfung mit Antigen		
gegen	Nr.	Rind	Ziege	Hammel	gegen	Nr.	Rind	Ziege	Hammel
Rind	H. 27	**20 000**	20 000 ±	20 000 ±	Rind	H. 142	**20 000**	100	100
„	„ 52	**20 000**	10 000 ±	1 000	„	„ 201	**20 000**	10 000 ±	10 000
„	„ 66	**20 000**	1 000	1 000	Ziege	„ 82	1 000	**20 000**	20 000
„	„ 197	**20 000**	1 000	20 000	„	„ 146	20 000	**20 000**	20 000
Ziege	„ 21	10 000	**10 000**	10 000 ±	„	„ 164	20 000	**20 000**	20 000
„	„ 39	10 000	**20 000**	20 000	„	„ 165	1 000	**20 000**	100
„	„ 46	10 000	**20 000**	10 000	Hammel	„ 89	1 000 ±	1 000	**20 000**
Hammel	„ 15	1 000	1 000	**20 000**	„	„ 178	20 000	20 000	**20 000**
„	„ 32	1 000	10 000	**20 000**	„	„ 198	10 000	20 000	**20 000** ±
„	„ 85	1 000	10 000	**20 000**	„	„ 199	20 000 ±	20 000	**20 000**

Auch bei Hirsch- und Rehantiserum weisen die nach beiden Methoden gewonnenen präzipitierenden Sera nur ganz selten Unterschiede in der Titerhöhe zwischen dem homologen und dem nahverwandten Antigen auf, etwas häufiger scheinen sie jedoch bei mit kochkoaguliertem Serum hergestellten Antiseren zu sein. (Zum Vergleich mußte auf einige, schon früher veröffentlichte Titerangaben zurückgegriffen werden, da jetzt Nativwildantisera kaum noch angesetzt werden.)

Tabelle XI.
Verwandtschaftspräzipitine bei Reh- und Hirschantiseren.

Antiserum gegen	Nr.	Titer bei Prüfung mit Antigen				
		Rind	Ziege	Hammel	Reh	Hirsch
Hirsch normal	1920	20 000	20 000	20 000	20 000	**20 000**
„ „	H. 47	1 000	.	100	10 000	**20 000**
Reh „	1921	20 000	20 000	20 000	**20 000**	20 000
„ „	1922	20 000	20 000	20 000	**20 000**	20 000
„ „	H. 51	20 000	20 000	20 000	**20 000**	20 000
„ „	„ 192	20 000	20 000	20 000	**20 000**	20 000
Hirsch kochkoaguliert	„ 105	1 000	10 000	1 000	20 000	**20 000**
„ „	„ 151	100	20 000	1 000	10 000	**20 000**
„ „	„ 167	100	1 000	1 000	1 000 ±	**20 000**
„ „	„ 168	10 000	10 000	1 000	20 000	**20 000**
Reh „	„ 101	0	10 000	1 000	**20 000**	20 000
„ „	„ 102	1 000	1 000	0	**20 000**	20 000
„ „	„ 135	0	1 000	0	**20 000**	1 000
„ „	„ 175	20 000	20 000	20 000	**20 000**	20 000

Durchschnittswert der Nativ-Reh- und Hirschantisera 1:18313, Durchschnittswert der kochkoagulierten Reh- und Hirschantisera 1:10055.

Die Werte für die entfernteren Verwandtschaftspräzipitine, für Rind, Ziege und Hammel, halten sich jedoch in recht niedrigen Grenzen — ein Durchschnittswert von 1:5425 im Gegensatz zu 1:17712 bei den Nativantiseren — so daß zur Herstellung von Wildantiseren kochkaoguliertes Antigen empfohlen werden kann. Außerdem verdient dieses wegen seiner besseren Haltbarkeit und seiner geringeren Giftigkeit gegenüber frischem Wildserum den Vorzug.

Die Prüfung der kochkoagulierten Antisera mit gekochtem Antigen (Bruynoghe, Rosenberg) — das Serum wurde 1:5 verdünnt, $^1/_2$ Std. auf 100° erhitzt und dann weiter verdünnt, so daß eine Gesamtkonzentration von 1:100, 1:1000 usw. resultierte — ergab in etwa $^1/_3$ der Fälle einen höheren spezifischen Titer als mit nativem Antigen, bei dem 2. Drittel waren beide Titer gleich, und bei dem Rest ging in Uebereinstimmung mit Rosenberg die Reaktion mit nativem Antigen sogar etwas weiter als mit gekochtem. Bei Bruynoghe dagegen reagieren die gekochten Antisera (mit nach seiner Methode gekochtem Serum hergestellt) mit Nativserum stets nur annähernd soweit wie mit gekochtem Antigen, nie aber weiter. Durch das Kochen scheint demnach das Serum stärker verändert zu werden als durch den Prozeß des Kochkoagulierens. Die Reaktion selbst tritt wie bei ihm in den Verdünnungen bis 1:1000 sehr viel voluminöser auf als mit nativem Antigen, bei 1:10000 und 1:20000 unterscheidet sie sich jedoch nicht von der mit Nativantigen angesetzten.

Die bei kochkoagulierten Antiseren gegenüber Nativantigen auftretende hochgradige Spezifität konnten wir bei gekochtem Antigen nicht beobachten. Es traten im Gegenteil weitgehende, unspezifische Reaktionen auf, die durchschnittlich sowohl in der Stärke wie in der Höhe der Reaktion über das bei Nativantiserum mit Nativantigen beobachtete weit hinausgehen. Vgl. Tab. XII.

Tabelle XII.

Prüfung von kochkoagulierten Antiseren mit gekochtem Antigen.

Antiserum gegen	Nr.	Titer mit gekochtem Antigen											Titer mit nativem Antigen	
		Hammel	Rind	Ziege	Reh	Mensch	Pferd	Schwein	Hund	Huhn	Gans	Ente	spezifisch	unspezifisch
Hammel	89	**1 000**	1 000	1 000	.	1 000	1 000	1000	1 000	0	.	.	10 000	0
„	109	**10 000**±	1 000	10 000±	.	1 000	100	1000	1 000	0	.	.	1 000	0
„	178	**20 000**±	20 000±	20 000±	.	1 000	1 000	1000	1 000	0	.	.	20 000±	0
„	198	**20 000**±	10 000±	10 000±	.	1 000	1 000	1000	1 000	0	.	.	20 000	100
„	199	**20 000**±	10 000±	10 000±	.	10 000±	1 000	1000	1 000	100	.	.	20 000	100+
Rind	142	1 000	**1 000**	1 000	.	100	100	100±	100	100	.	.	0	0
„	201	1 000	**1 000**	1 000	.	1 000	1 000±	100±	1 000	100±	.	.	20 000	100
Ziege	82	1 000	1 000	**1 000**	.	1 000	1 000	1000	1 000	0	.	.	10 000±	0
„	146	10 000±	1 000	**10 000**±	.	1 000	100	0	1 000±	0	.	.	20 000±	100
„	164	1 000	1 000	**1 000**	.	1 000	100	100±	100	0	.	.	20 000	100
„	165	1 000	1 000	**1 000**	.	1 000	100	100±	100	0	.	.	20 000	100
Reh	101	20 000±	20 000±	20 000±	**20 000**±	10 000±	1000	1000	1 000	100±	.	.	1 000	0
„	102	1 000	10 000±	10 000±	**10 000**±	1 000	1 000	1000	1 000	100±	.	.	1 000	0
„	175	1 000	10 000	1 000	**10 000**	1 000	100	100	1 000	0	.	.	20 000	0
„	190	10 000	10 000	10 000	**10 000**±	10 000±	10 000±	1000	1 000	0	.	.	20 000	0
Pferd	117	.	1 000	.	.	1 000	**20 000**	1000	1 000	0	.	.	10 000±	0
Hund	140	.	1 000	.	.	1 000	1 000	1000	**20 000**±	.	.	.	1 000	100
Gans	86	.	0	.	.	0	0	0	0	1000	**1000**±	1000	0	0
„	92	.	0	.	.	100	0	0	0	1000	**100**±	1000	0	0
„	130	.	0	.	.	0	0	0	0	1000	**1000**	1000	1 000	0
„	131	.	0	.	.	0	0	0	0	1000	**1000**	1000	1 000	0
Ente	94	.	0	.	.	1 000±	100	100	1 000±	1000	1000	**1000**	100	0
„	133	.	0	.	.	0	0	0	0	1000	1000	**1000**	20 000±	0
„	136	.	0	.	.	100±	0	0	0	1000	1000	**1000**	20 000	0

Diese Befunde stehen im Gegensatz zu den Protokollen Rosenbergs, die bei kochkoagulierten Seren gegenüber gekochtem Antigen nur selten schwache unspezifische Reaktionen beobachtete. Vielleicht erklärt sich dieser Widerspruch dadurch, daß die von uns untersuchten Antisera hochwertiger waren, da sie bei Entblutung des Tieres stets schon nach $^1/_4$ Std. einen Titer von 1:20000 aufwiesen, während Rosenberg beschreibt, daß ihre Reaktionen häufig mit Verzögerungen bis zu 1 Std. auftraten. Erfahrungsgemäß weisen hochwertige Antisera leichter übergreifende Präzipitine auf als solche mit niedrigerem Titer. Aber nur die ersteren sind brauchbar zur Abgabe an andere Untersuchungsstellen.

Durch das Kochen wird die Spezifität des Antigens nach unseren Beobachtungen also eher verringert, jedenfalls nicht vergrößert.

Die Brauchbarkeit des kochkoagulierten Antiserums für ungekochte Antigene wird durch die eben dargelegten Befunde natürlich nicht beeinflußt. Mit gekochten Antigenen wird man jedoch in der Praxis nicht immer zum Ziel gelangen können.

Vorläufig erscheint uns daher die Verwendung von kochkoaguliertem Serum zur Herstellung hochwertiger präzipitierender Sera für forensische Zwecke nur für Wildsera zweckmäßig.

Zusammenfassung.

1) Von 65 mit nativem Antigen hergestellten hochwertigen, präzipitierenden Antieiweißseren griffen 46,2 Proz. auf heterologe Sera über; von diesen war in 17,8 Proz. der heterologe Titer sogar ebenso hoch wie der homologe. — 2) Von Bedeutung für das Zustandekommen heterologer Präzipitine ist: a) die Jahreszeit mit ihrer verschiedenen Sommer- und Winterernährung. Im Sommer ergaben sich nur 37,5 Proz. unspezifische Antisera gegenüber 58,3 Proz. im Winter, b) die Zahl der zur Erreichung der Titerhöhe notwendigen Injektionen. — 3) Die Nachprüfung der Versuche von Bull und King hat ergeben, daß eine serienweise Behandlung der Tiere mit anschließenden doppelten Blutentnahmen wegen des Auftretens unspezifischer Reaktionen bei Säugetierantiseren nicht brauchbar ist; für Geflügelantiseren ist sie aussichtsreicher, da heterologe Präzipitine dort seltener beobachtet werden. — 4) Mit kochkoaguliertem Serum nach Fujiwara wurden 27 Antisera hergestellt, von denen 81,5 Proz. gegenüber nativem Antigen absolut spezifisch waren. Zur Unterscheidung sehr nahverwandter Tierarten, wie Hirsch und Reh, Rind, Ziege und Hammel oder Gans und Ente waren diese Antisera nicht geeigneter als Nativantisera, wohl aber traten bei Reh- und Hirsch-Antiseren die entfernteren Verwandtschaftsreaktionen mit der Rind-Ziege-Hammelgruppe deutlich zurück gegenüber den entsprechenden Befunden bei Nativantiseren. — 5) Die Prüfung der kochkoagulierten Antisera mit gekochtem Antigen ergibt nur zum Teil höhere Titerwerte als mit Nativantigen; bei heterologen Antigenen treten weitgehende unspezifische Reaktionen auf.

Literatur.

Ascoli, M., Münch. med. Wochenschr. Bd. 49. 1902. S. 1409. — Beger, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 519. — Bertarelli, Riv. d'Ig. 1904. Refer. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904. S. 358. — Bruynoghe, R., Arch. internat. de méd. exp. T. 1. 1924. p. 373. — Bull, C. G., u. King, W. V., Americ. Journ. Hyg. Vol. 3. 1923. p. 491. — Fornet, F. u. Müller, M., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. S. 215. — Friedberger, E. u. Collier, A., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 28. 1919. S. 237. — Friedberger, E. u. Jarre, A., Ebenda. Bd. 30. 1920. S. 351. — Friedberger, E. u. Lasnitzki, A., Klin. Wochenschr. 1922. S. 1607. — Friedberger, E. u. Meißner, G., Zeitschrift f. Immunitätsf. Bd. 36. 1923. S. 233. — Fujiwara, K., Zeitschr. f. gerichtl. Med. Bd. 1. 1922. S. 562. — Ilchun, Yu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 381. — Kister, J. u. Weichardt, W., Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Bd. 15. 1902. S. 729. — Liepmann, W., Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 29. 1903. S. 383. — Manteufel, P. u. Beger, H., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. 1922. S. 348. — Ders. u. Tomioka, Y., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 317. — Meißner, G., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 36. 1923. S. 272. — Obermayer, F. u. Pick, E. P., Wien. klin. Wochenschr. Bd. 17. 1904. S. 265. — Rosenberg, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. 1926. S. 297. — Schmidt, W. A., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 13. 1912. S. 166. — Scimone, V. u. Torii, T., Ebenda. Bd. 38.1923/24. S. 264. — Tsukasaki, R., Tohoku Journ. of exp. Med. Bd. 3. 1922. p. 653. — Weichardt, W., Hyg. Rundsch. Bd. 13. 1903. S. 491. — Ders., Ebenda. S. 756. — Ders., Vierteljahresschr. f. gerichtl. Med. 3. Folge. Bd. 29. 1905 S. 19. — Wolff, E. K., Klin. Wochenschr. 1923. S. 1304.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Herstellung von Vakzinen mit Chin. bisulf.-Lösung.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt der Stadt Dresden (Dir.: Geheimrat Schmorl).]

Von Dr. **Ilse Franz.**

Mit 3 Kurven im Text.

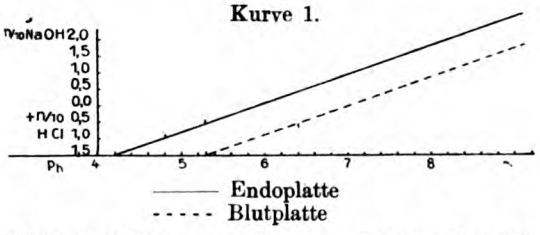
Angeregt durch die Arbeit von Popper und Silberstein in der Wiener klin. Wochenschr. 1925. Nr. 46 versuchten wir Autovakzinen mit einer Lösung von Chin. bisulf. herzustellen. Wir konnten ebenso wie Popper und Silberstein feststellen, daß die Vakzine gut steril haltbar ist und daß das Chinin in kürzerer Zeit die Bakterien tötet. Zur Bereitung von Impfstoffen bewährte sich uns bei säurebildenden Bakterien am besten die $^1/_2$proz. Lösung, bei anderen eine $^1/_4$proz. Lösung. Da sich die Methode bewährte, stellten wir Vakzinen stets nach ihr her.

Kürzlich sollten wir eine Autovakzine anfertigen von aus einer Blutaussaat gewachsenen Staphylokokken. Ich verarbeitete die Bakterien in der stets geübten Weise, bekam aber trotz stundenlangem Schütteln nach sehr gutem Verreiben nie eine homogene Flüssigkeit, im Gegenteil bei sehr langem Schütteln; ebenso wie mit steigendem Keimgehalt wurde der Impfstoff mehr und mehr geflockt, und bildete bei längerem Stehen einen voluminösen, weißlich glänzenden, schollig lockeren Niederschlag. Unter dem Mikroskop zeigte sich, daß er aus feinen teils zu Büscheln zusammengelagerten Nadeln bestand, die ganz Chininkristallen glichen.

Da ich gleichzeitig eine Vakzine hergestellt hatte von auf einer Blutplatte gewachsenen Bakterien, die flockte, und von auf Endo-Platten mit leichter Säurebildung gewachsenen, die nicht flockte, versuchte ich festzustellen, ob etwa der Säure-, resp. Alkaligehalt der Bakterien die das Chinin flockende Ursache sei. Denn auf Zusatz von Säure löste sich selbst der voluminöseste Niederschlag leicht auf. Genauere Untersuchungen über die Fällungsgrenze der $^1/_2$proz. Chin. bisulf.-Lösung ergaben, daß die ursprünglich klare Lösung opaleszent wird bei pH 6,8 bis 7,4, bei pH 7,5 anfängt fein zu flocken, um bei pH 7,8 einen dicken Niederschlag zu geben.

Ich versuchte nun festzustellen, inwieweit der Säure-Alkaligehalt der Bakterien beeinflußt wird von dem des Nährbodens. Zu Blutagarplatten setzte ich 2,0, 1,5, 1,0, 0,5 ccm n/10 NaOH und 0,5, 1,0, 1,5 usw. n/10 HCl. Ich beimpfte mit dem gleichen Stamm von Staphylokokken und verarbeitete die 48 Std. alte Kultur zu einer Bakterienaufschwemmung. Zu diesen und den folgenden Messungen benutzte ich, soweit nicht anderes bemerkt ist, eine Aufschwemmung mit 50 Millionen Keimen im ccm. Von den Blutplatten hatte ich Endo-Platten mit 24 Std. alten Kolonien beimpft, um grobe Unterschiede im Säurebildungsvermögen sehen zu können. Dieses war auf den stark alkalischen Platten geringer als auf den stark sauren, doch ließen die geringeren Zusätze keine sicheren Unterschiede erkennen. Die Abhängigkeit des Bakteriensäuregehalts von dem des Nährbodens zeigt Kurve 1.

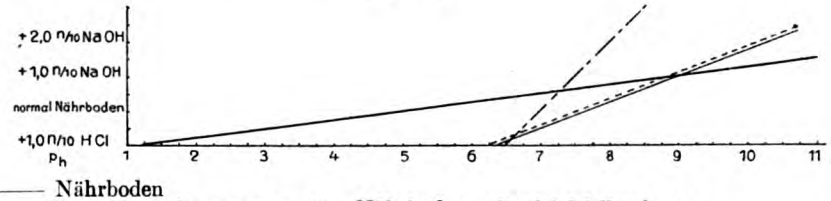
Kurve 1.



——— Endoplatte
- - - - - Blutplatte

Um die Abhängigkeit, resp. die Aenderung des Säuregehalts des unbewachsenen Nährbodens einerseits und des beimpften und der Bakterienaufschwemmung andererseits kennen zu lernen, stellte ich Gelatineplatten mit bestimmten pH her, beimpfte sie und maß ebenso in ihnen wie in den Bakterienaufschwemmungen den Säuregrad. Das Ergebnis der Messungen stellt Kurve 2 dar.

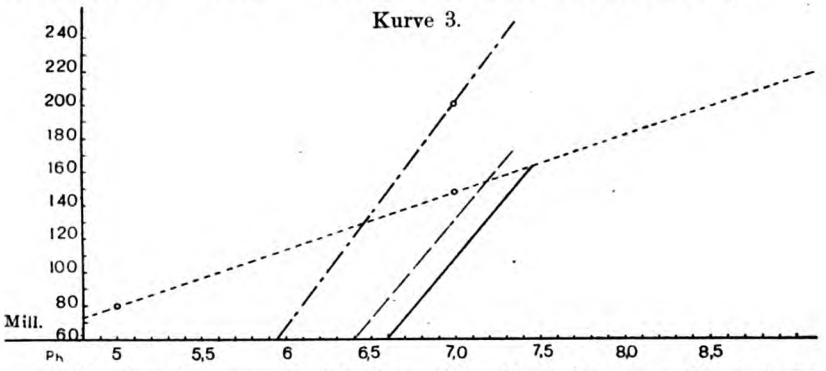
Kurve 2.



——— Nährboden
— — — — bakt. Aufschwemmung vom Nährboden mit gleichfallend. pH
——— beimpfter Nährboden

Man sieht wohl, daß eine Abhängigkeit im Säuregehalt des Bakteriums von dem des Nährbodens besteht, daß das Bakterium aber nur einen bestimmten Teil der Säure absorbiert, und von sehr sauren Nährböden nur relativ wenig beeinflußt wird.

Als letztes blieb mir, festzustellen, inwieweit pH der Aufschwemmung sich mit steigendem Keimgehalt ändert, und dadurch das Gelöstbleiben des Chin. bisulf. beeinflußt wird (Kurve 3).



------ bakt. Aufschwemmung in 0,5 Proz. Chin. bisulf.-Lösung. o Chinin flockt aus
— · — · — bakt. Aufschwemmung in 0,25 Proz. Chin. bisulf.-Lösung
— — — auf n Blutplatte gewachsene Aufschwemmung in phys. NaCl-
——— Aufschwemmung auf Blutplatte + 0,5 ccm n/10 NaOH gewachsenen in phys. NaCl.

Zusammenfassung: Es besteht eine Abhängigkeit des Säuregehalts der Bakterienaufschwemmung von der des Nährbodens, auf dem sie gewachsen sind. Säure-, resp. Alkaligehalt können pH der zur Bereitung des Impfstoffs benutzten Chin. bisulf.-Lösung so beeinflussen, daß das Chinin ausflockt. Deshalb empfiehlt es sich, zur Herstellung einer Vakzine aus Bakterien, die keine Säure bilden, 0,25 Proz. Chin. bisulf.-Lösung zu verwenden.

Berichtigung: S. 270, 6. Zeile von unten muß es heißen: „im Gegenteil bei sehr langem Schütteln ebenso wie mit steigendem Keimgehalt . . . . .“

Inhalt.

Fischer, Heinrich, u. **Kliewe, H.,** Zur Wirkung der Kastration auf Infektionsfähigkeit und Antikörperbildung beim Tier, S. 161.

Franz, Ilse, Zur Frage der Herstellung von Vakzinen mit Chin. bisulf.-Lösung. Mit 3 Kurven im Text, S. 270.

Frohböse, H., Beitrag zum biochemischen Verhalten der bipolaren Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. S. 213.

Goerttler, V., Versuche über die abtötende Wirkung des Aetzkalkes gegenüber Milzbrandkeimen mit besonderer Berücksichtigung der Gärbereiabgänge. Mit 6 Tabellen im Text, S. 195.

Herrmann, Otto, Die Ursachen der antirabischen Paralysen (experimentelle und klinische Beobachtungen). I. Mitteilung, S. 178.

Jermoljewa, S., Vibrio phosphorescens beim klinischen Bilde der Cholera und sein Zusammenhang mit anderen Vibrionen, S. 170.

Kollath, Werner, Vitaminsubstanz oder Vitaminwirkung? Mit 3 Abbildungen im Text und 6 Tafeln, S. 97.

Leonhardt, Ueber Gastroenteritis paratyphosa. Mit 1 Tafel, S. 168.

Meißner, Gertrud, Beitrag zur Frage der Herstellung hochwertiger, spezifischer präzipitierender Sera für forensische Zwecke, S. 258.

Möhrke, W., Kritische Bemerkungen zum Problem der Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebaz., sowie einige experiment. Untersuch. zu dieser Frage, S. 145.

Rukawischnikoff, E., Zur Biologie des B. fusiformis und der Spirochaete Vincenti, S. 218.

Yakimoff, W. L., Piroplasmosis (Babesiellosis, red water) of the cattle in the north-west of Russia, S. 224.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5525.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 100. Heft 7/8.

Ausgegeben am 26. November 1926.

Nachdruck verboten.

Vergärung substituierter Kohlehydrate durch Bakterien der Coli- und Lactis aërogenes-Gruppe.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg (Dir.: Obermedizinalrat Prof. Dr. B. Nocht — Bakteriologische Abteilung Prof. Dr. M. Mayer und Chemische Abteilung Prof. Dr. G. Giemsa).]

Von Dr. **Hermann Hees** und Dr. **Caspar Tropp.**

Mit 1 Tafel.

Seit den Arbeiten Escherichs über Bact. coli sind wir uns klar über die differenzierte Morphologie innerhalb dieser Gruppe, zu der wir alle Bakterien rechnen, die mäßig bewegliche, gramnegative Stäbchen sind, Milch- und Traubenzucker vergären, Gelatine nicht verflüssigen und Indol bilden.

Escherich trennte bereits das Bact. lactis aërogenes ab, das unbeweglich ist, eine Schleimhülle hat und größere Mengen Gas als Bact. coli bildet. — Hüppe berschrieb den Bac. acidi lactici, doch wird dieser heute noch teilweise als identisch mit dem Bact. lactis aërogenes erklärt, da ihre Unterscheidungsmerkmale zu unbestimmt sind (Conradi, Kruse, Lehmann und Neumann). — Mac Conkey stellte aus seinem umfassenden Material 4 Hauptgruppen auf, zu denen Bact. coli communis, Bact. coli communior (Durham), Bac. acidi lactici und Bact. lactis aërogenes gehören. Er stützte sich dabei auf die verschiedene Vergärung der einzelnen Kohlehydrate. Auch Jensen beweist in seinen Arbeiten über Kälberruhr die Brauchbarkeit dieser Vergärungsmethoden zur Unterscheidung einzelner Coli-Arten. Adam gelang es ebenfalls durch die Kohlehydratvergärung den Dyspepsie-Coli von anderen Coli-Bakterien zu unterscheiden.

Bei einem Versuch, verschiedene bei perniziöser Anämie gefundene Coli-Stämme zu vergleichen, erwiesen sich uns die bisher gebräuchlichen Methoden jedoch als unzureichend. Es gibt zahlreiche Coli-Stämme, die sich bei der Vergärung der bekannten Kohlehydrate gleich verhalten und doch im Wachstum auf verschiedenen Nährböden vollkommen uneinheitlich sind. Eine Zusammenstellung dieser Zucker und höherer Alkohole von Conradi und Bierast zeigt, wie wenige zur Coli-Unterscheidung brauchbar sind, und wie viele Fragen es auf diesem Gebiete noch zu lösen gilt. Es erschien uns möglich, durch Untersuchung mit verschiedenen substituierten Kohlehydraten neue Wege zu finden, was auch chemisch von Interesse war. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Mayer und Herrn Prof. Giemsa wurde deshalb versucht, diese unsere wichtigste differentialdiagnostische Methode weiter auszubauen.

Versuchsanordnung.

Eine größere Zahl Bakterien der Coli-Gruppe wurde aus dem Stuhl und Urin verschiedener Patienten isoliert, außerdem wurden einige Bakterien aus der Milch gezüchtet. Diese Stämme wurden mit den üblichen bakteriologischen Nährböden bis ins einzelste studiert, dann mit der gebräuchlichen Zucker- und Alkoholreihe geprüft. Diese Untersuchungen ergänzten wir, indem wir substituierte Kohlehydrate auf ihre differentialdiagnostische Brauchbarkeit prüften.

Bakterienstämme.

Alle unsere Stämme wurden innerhalb der letzten 2 Monate aus Stuhl, Urin und Milch isoliert. Die Gärungsproben wurden also nur mit Bakterienstämmen ausgeführt, die noch nicht durch lange künstliche Fortzüchtung ihre Eigenschaften verändert haben konnten, wie dies von Twort beschrieben wurde und auch bei Ruhrbazillen bekannt ist. Es wurden dann aus der Král schen Sammlung alte Originalstämme von jedem Typus bezogen und geprüft, ob diese Laboratoriumsstämme irgendwie in Wachstum oder in der Vergärung sich unterschieden.

Die Herkunft der einzelnen Stämme ist aus der Tabelle ersichtlich.

Stamm	1	Stuhl Pat. H.,
„	2	Urin Pat. K., Colicystitis und Sepsis,
„	3	Urin Pat. R., Cystitis,
„	4	Milch,
„	5	Stuhl }
„	6	Urin } Pat. W., perniziöse Anämie und Cystitis,
„	7	„ }
„	8	Stuhl Pat. Dö., intestineller Infantilismus,
„	9	„ „ B.,
„	10	„ „ D. (4 Mon., Dyspepsie),
„	11	Milch,
„	12	Stuhl Pat. W., perniziöse Anämie,
„	13	„ „ M., „ „
„	14	Milch,
„	15	Stuhl }
„	16	„ } Orang-Utan, Dyspepsie,
„	17	Originalstamm Král, Bac. acidi lactici (Hüppe),
„	18	Milch,
„	19	„
„	20	Stuhl Pat. M., perniziöse Anämie,
„	21	„ „ B.,
„	22	Originalstamm Král, Bact. lactis aërogenes (Escherich),
„	23	Stuhl Pat. K., Dyspepsie,
„	24	„ Orang-Utan, Dyspepsie,
„	25	Milch,
„	26	Stuhl Pat. E. (Bazillenruhr),
„	27	Originalstamm Král Bact. pneumoniae (Friedländer) 1917,
„	28	„ „ „ cloacae (Jordan).

Die Stämme wurden durch Aussaat auf Drigalski-Platten isoliert. Durch Vergärung mit Saccharose und Dulcit konnten wir die Stämme entsprechend den Mac Conkeyschen Untersuchungen in 3 Gruppen einordnen: Bact. coli, Bac. acidi lactici und Bact. lactis aërogenes. Zu vergleichenden Zwecken untersuchten wir ebenfalls die von Král bezogenen Stämme: Bact. pneumoniae (Friedländer) 1917 und Bact. cloacae (Jordan).

Bact. coli commune (Escherich).

Nach Escherich und allen späteren Autoren rechnen wir zur Gruppe des Bact. coli commune alle gramnegativen, kurzen Stäbchen, die eine geringe Beweglichkeit zeigen, keine Sporen bilden, Traubenzucker unter Säure- und Gasbildung, Milchzucker unter Säureentwicklung[1]) vergären, Gelatine nicht verflüssigen und in Peptonwasser Indol bilden.

Bac. acidi lactici (Hüppe).

Dieser von Hüppe bei der Milchsäuregärung gefundene Bazillus unterscheidet sich vom Bact. coli commune nur durch seine vollkommene Unbeweglichkeit. Es bestehen immer noch Zweifel, ob es berechtigt ist, einen Bac. acidi lactici vom Bact. coli abzutrennen; es gibt sogar eine größere Anzahl von Autoren, die ihn für identisch mit dem Bact. lactis aërogenes erklären.

Bact. lactis aërogenes (Escherich).

Escherich fand dieses Bakterium hauptsächlich im Darmkanal von Menschen und Tieren, die mit Milch gefüttert wurden, während es in der Milch und den Fäzes seltener nachgewiesen werden konnte.

Es sind kurze Stäbchen, die vollkommen unbeweglich sind, öfters eine deutliche Schleimhülle zeigen. Durch diese Schleimbildung läßt sich Bact. lactis aërogenes immer vom Bact. coli unterscheiden. Außerdem ist die Gasproduktion bei der Milch- und Traubenzuckervergärung weit größer, während die Indolbildung häufig fehlt (Flügge).

Wir fanden in der Milch zahlreiche Bakterien, die durch ihre Schleimbildung zunächst an Bact. lactis aërogenes erinnerten. Doch bei genauer Prüfung waren alle bis auf Stamm 25 zum Teil durch ihre Beweglichkeit so verschieden von dem Krålschen Originalstamm und den aus dem Stuhl isolierten, daß es bestimmt keine Lactis aërogenes waren, wenn es uns auch bisher nicht gelang, ihre Zugehörigkeit festzustellen.

Diese allgemeinen Unterscheidungsmerkmale ermöglichen nicht immer eine scharfe Abgrenzung. So gibt es Coli-Bakterien, die unbeweglich sind. Doch scheint es keinesfalls angängig, Stämme, die beweglich sind, zur Lactis aërogenes-Gruppe zu rechnen, wie dies in den Gruber- und Lintonschen Arbeiten leider nicht scharf genug betont wird. Vielleicht ist es ebenso mit der Indolbildung; unsere 5 Lactis aërogenes-Stämme bildeten in 4 Wochen und in Peptonlösungen verschiedenster Konzentration keine Spur Indol.

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Arten werden durch Züchten auf festen Nährböden bereits wesentlich deutlicher.

Wachstum auf festen Nährböden.

Agar- und Drigalki-Nährböden.

Bact. coli commune zeigt verschiedene Wachstumsformen. Wir unterscheiden meist flache, leichte irisierende, weißliche Kolonien, die

1) Gasbildung lassen einzelne Stämme vermissen (Konrich).

auf Drigalski-Nährböden die Umgebung röten. Diese Kolonien zeigen teils radiäre strahlige Zeichnung und unregelmäßig gezackte Ränder, so daß sie an Traubenblätter erinnern; andere sind getrennt in ein dunkles, unregelmäßig gekörntes Zentrum und eine schleimig-homogene Peripherie, so daß man sie wie Escherich mit Wurmeiern vergleichen kann. Es finden sich auch saftigere Formen, die jedoch immer einen kleinen Nabel evtl. auch gezackte Ränder aufweisen.

Bac. acidi lactici (Hüppe) wächst in ebensolchen Formen wie Bact. coli; wir haben Traubenblattformen gesehen (Stamm 17). Die Aufnahme von Stamm 20 (Fig. 1) stellt eine Kolonie dar, die Escherich mit Bandwurmeiern vergleicht und kaum von Bact. coli-Kolonien zu unterscheiden ist.

Bact. lactis aërogenes dagegen ist immer durch seine ungeheure Schleimentwicklung zu erkennen. Auf Agar- und Drigalski-Platten wachsen die Kolonien bald zu halbkugelförmigen weißglänzenden Gebilden heran (Fig. 2). Diese zeigen keinerlei Struktur, nur selten sind kleine Einkerbungen am Rand oder leichte Aufhellung innerhalb der Schleimes sichtbar. Escherich gibt an, daß die Kolonien weniger in die Breite, sondern mehr in die Höhe wachsen und dadurch mitunter überhängende Ränder bekommen.

Die Schleimbildung war bei einzelnen Stämmen so stark, daß man an Bact. pneumoniae (Friedländer) erinnert wurde, doch wachsen Friedländer-Kulturen mit einem fast farblosen, glasigen Schleim, der nur eine leichte Faser- oder Sternbildung im Zentrum aufweist. Auf Drigalski-Platten findet sich nur geringe Rötung, und die Kulturen rutschen vom Schrägagar nach einigen Tagen ins Kondenswasser herab.

Bact. cloacae dagegen zeigte in unseren Beobachtungen nie diesen halbkugelartigen Kolonietyp und rötete Drigalski-Agar nur sehr langsam. Im übrigen ist es stark beweglich.

Levinescher Eosin-Methylenblau-Agar.

Die Unterscheidung von Bact. coli und Bac. acidi lactici ist auf Drigalski-Agar unmöglich, während Bact. lactis aërogenes durch seine starke weiße Schleimbildung leicht zu erkennen ist. Es gibt jedoch so zahlreiche, dem Bact. lactis aërogenes ähnliche Mikroorganismen, daß es eine große Erleichterung für die Differentialdiagnose ist, wenn man den von Levine angegebenen Milchzuckeragar mit Zusatz von Methylenblau und Eosin verwendet.

Die Originalvorschrift zur Herstellung des Nährbodens (der übrigens von der Digestive Ferments Comp., Detroit, U. S. A. fertig bezogen werden kann) lautet:

Aq. dest.	1000,0
Pepton	10,0
sec. Kaliumphosphat	2,0
Agar	15 0

Kochen bis zur Lösung und zu je 100 ccm, bevor man Platten ausgießt, hinzufügen:

sterile (20proz.) Laktoselösung	5 ccm
wäßrige (2proz.) Eosinlösung	2 „
wäßrige (2proz.) Methylenblaulösung	2 „

Skinner hat später einen Zusatz von $^1/_{100\,000}$ g Kristallviolett empfohlen, was sich uns ebenfalls von Vorteil erwies. Levine gibt bereits die Hauptmerkmale zur Unterscheidung von Bact. coli und Bact. lactis aërogenes an.

Bact. coli wächst in kleinen, dunkelmetallisch glänzenden Kolonien, die nur wenig über die Oberfläche erhaben sind und nicht konfluieren. Lactis aërogenes dagegen wächst in großen, hellen, gequollenen Kolonien, die schnell konfluieren. Wir konnten diese Beobachtungen nur bestätigen. Es bestehen die größten Unterschiede in der Schnelligkeit des Wachstums, in der Neigung zu konfluieren und der Farbe der Kolonien.

Außerdem ist es aber mit Hilfe dieses Nährbodens möglich, Bac. acidi lactici sowohl von Coli- wie Lactis aërogenes-Stämmen streng zu trennen. Auch andere häufig mit Coli und Lactis aërogenes in Beziehung gebrachte Bakterien lassen sich genauer als auf Drigalski-Platten abtrennen.

Bact. pneumoniae (Friedländer) wächst in farblosen Kolonien, die etwas über die Oberfläche erhaben sind. Bact. cloacae (Jordan) wächst in sehr kleinen, wenig sichtbaren blauweißen Kolonien, die die Umgebung weithin zinnoberrot aufhellen.

Die von den einzelnen Gruppen hergestellten Aufnahmen geben die Hauptmerkmale wieder:

Fig. 3. Bact. coli (Stamm 12) wenig erhabene, kleine, undurchsichtige, metallisch glänzende Kolonien, die auch nach 3 Tagen noch nicht konfluieren. Der Farbunterschied ist am deutlichsten im dünneren Zentrum der durchsichtigen Platte. Sie wurden deshalb im durchfallenden Licht aufgenommen.

Fig. 4. Bac. acidi lactici (Hüppe), Stamm 17, größere, hellblau, milchig-schleimige Kolonien, die sich über die Oberfläche erheben und im Zentrum metallisch gefärbt sind. Sie konfluieren nach 1—2 Tagen. Farbunterschiede sind am deutlichsten auf den undurchsichtigen Teilen der Platte oder gegen dunklen Hintergrund (im auffallenden Licht auf schwarzem Untergrund photographiert).

Fig. 5. Bact. lactis aërogenes (Escherich), Stamm 22, große, hellrosa durchscheinende Kolonien, die halbkugelförmig wachsen können[1]), da sie solche Mengen durchsichtigen Schleimes bilden, daß dieser entweder über den Nährböden zerfließt oder bei umgekehrten Platten nach unten tropft. Farbunterschied am deutlichsten im durchfallenden Licht.

Vergärungen.

Es wurden die verschiedenartigsten Zucker auf ihr Vergärungsvermögen durch Bakterien der Coli- und Aërogenes-Gruppe untersucht.

In diesem Zusammenhang scheint es angebracht, kurz nochmals den Begriff der Gärung in dem meist heute angewandten Sinne zu erläutern. Früher galt das Symbol der Gärung die alkoholische, ein Abbau von Kohlehydraten in Kohlensäure und Alkohol, mit anderen Worten eine Spaltung in gasförmige Produkte und kohlenstoffärmere organische Verbindungen. Heute faßt man den Begriff der Gärung weiter und bezeichnet als solche einen jeglichen Abbau von Kohlehydraten und Eiweißstoffen, sei es durch Mikroorganismen oder durch Fermente und Enzyme, die durch Bakterien entstehen. Die Gasbildung, früher ein Kriterium, gilt heute nicht mehr als solches.

1) Es bedarf einiger Uebung, die weichen Agarplatten umgekehrt im Brutschrank aufzubewahren. Die Kolonien wurden in größerer Entfernung ausgesät, da sie sonst in wenigen Std. konfluierten.

Zu unseren Untersuchungen konnten die Conradischen Nährböden nicht dienen, da von vornherein ein jeglicher Fehlschluß durch geringe, im Agar enthaltene Mengen Zucker ausgeschlossen sein mußte. Deshalb verwendeten wir 1proz. Peptonwasser mit 0,5proz. Natriumchlorid und 13proz. Lackmuslösung. Diesem Nährboden wurden nach Sterilisation $^1/_2$ Proz. des zu untersuchenden Kohlehydrates zugesetzt und mittels der Michaelisschen Gaskette die Wasserstoffkonzentration auf pH = 7,0 eingestellt. Sodann wurde die Lösung an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 20 Min. auf 85° erhitzt. Höhere Temperaturen mußten vermieden werden, damit keine Veränderung der oft empfindlichen Kohlehydrate eintreten konnte. Diese franktionierte Sterilisation erwies sich als durchaus einwandfrei. Mehrere Substanzen spalteten trotzdem bei der angegebenen Temperatur und im Brutschrank Säure ab, so daß ihre Prüfung unmöglich war. Der Kohlehydratzusatz von $^1/_2$ Proz. genügte fast bei allen Untersuchungen zur Erreichung einwandfreier Ausschläge, nur bei einigen Zuckern war es nötig, den Prozentgehalt auf 2 Proz., bei Glyzerin sogar auf 5 Proz. zu erhöhen. Bei $^1/_2$- bis 1proz. Lösungen waren die Ausschläge oft gering und schwankend, daß sich nur mittels des Gaskette Unterschiede feststellen ließen. Der mehrmalige Umschlag von der sauren zur alkalischen Seite bewies uns, daß die Spaltung des Zuckers immer wieder durch basische Eiweißzerfallsprodukte überdeckt wurde[1]). Erst als wir 2- und 4proz. Lösungen verwandten, wurden die Ausschläge deutlich sichtbar. Es war jedoch immer erforderlich, die pH-Ionenkonzentration genau auf 7,0 einzustellen, da sonst die Resultate leicht getrübt wurden und Eiweißspaltung überwog. Bei Einhaltung dieser Versuchsbedingung konnten wir in den als positiv bezeichneten Gärungsproben beträchtliche Säuremengen nachweisen. Es wurden zum mindesten pH-Werte von 5,8 erhalten, und in den meisten Kulturen starben die Bakterien wegen zu starken Säuregehaltes bei 4,7 ab.

Begonnen wurden die Untersuchungen mit den bekannten Hexosen, d-Glukose, d-Mannose, d-Fruktose und d-Galaktose, die, wie schon lange bekannt, auch von allen unseren Stämmen glatt vergoren wurden. Die Pentosen: l-Arabinose und l-Xylose verhielten sich ebenso. l-Rhamnose, auch eine Pentose, doch chemisch dadurch von den beiden vorigen Zuckern unterschieden, daß sie eine Methylpentose ist, also strukturchemisch abweicht, wurde von zwei Stämmen (12 und 13) der 1. Gruppe und Stamm 17 der 2. Gruppe nicht angegriffen. Die Disaccharide Laktose und Maltose wurden von allen Stämmen vergoren. Saccharose macht eine Ausnahme. Die Stämme 5—11 und 22—26 werden zerlegt, während die übrigen Stämme unangegriffen bleiben. Die Abweichung dieses letzten Disaccharids von den beiden anderen ist überraschend. Wodurch mag dies wohl bedingt sein? Die Saccharose ist chemisch von den beiden erwähnten Zuckern grundverschieden, indem sie zur einen Hälfte aus Fruktose, einer Ketose besteht, während die beiden anderen nur aus Aldosen zusammengesetzt sind. Aehnlich in ihrer Wirkung auf die Coli-Stämme, wie Jensen und Burk gezeigt haben, verhält sich Raffinose, ein Trisaccharid, bestehend aus Glukose, Galaktose und ebenfalls Fruktose. Für eine

1) Bei Ruhrstämmen ist es eine häufige Beobachtung, daß bei zu niedrigem Kohlehydratzusatz die Eiweißspaltung überwiegt; auch zeigen im allgemeinen frisch aus dem Stuhl isolierte Stämme eine größere Avidität zum Eiweiß als künstlich fortgezüchtete Ruhrstämme.

Sonderstellung der Fruktose haben wir bei den Vergärungsresultaten der Hexosen keine Handhabe, doch soll sich für ihre Eigenart, sobald sie substituiert ist, interessantes Material zeigen, wie wir später sehen werden. Die Vermutung, die verschiedene Spaltbarkeit auf die Komponente der Fruktose zu setzen, scheinen uns nicht ganz von der Hand zu weisen zu sein.

Den 6wertigen Alkohol Dulcit vergären die Stämme 1—11, nicht die restlichen. In Gruppe 3 zersetzen ihn noch 2 Stämme, darunter der Králsche Originalstamm Lactis aërogenes (!) 22.

Der 6wertige Alkohol d-Sorbit wird von fast allen Stämmen vergoren, nur der Stamm 10 aus einem Dyspepsiestuhl und der Stamm 16 vermögen ihn nicht zu zerlegen. d-Mannit, ebenfalls ein 6wertiger Alkohol, wird von allen Stämmen gleichmäßig vergoren.

Der 5wertige Alkohol Adonit läßt keinen einheitlichen Schluß zu. Die Stämme 11, 17, 19, 22, 23 und 26 zerlegen ihn, während die übrigen ihn nicht anzugreifen vermögen.

Für alle Coli-Stämme scheint der 4wertige Alkohol Erythrit unvergärbar zu sein, während der 3wertige Glyzerin von allen glatt vergoren wird.

Eine Sonderstellung sowohl in chemischer als auch in gewisser bakteriologischer Richtung nimmt der Cyklozucker Inosit (Hexaoxyhexahydro-Benzol) ein. Uns scheint er wohl geeignet für differentialdiagnostische Zwecke, da er von allen Stämmen des Bact. lactis aërogenes zersetzt wird, die wir untersucht haben. Der Stamm 11 aus Milch als einziger der übrigen Stämme hat ihn auch noch zerlegt.

Dies ist das Ergebnis der Untersuchungen mit den bis jetzt meist angewandten Kohlehydraten. Wir suchten nach weiteren differentialdiagnostischen Mitteln und haben eine systematische Untersuchung mit substituierten Kohlehydraten begonnen. Vereinzelt sind in der Literatur solche Versuche bekannt, K. Meyer berichtet über den bakteriellen Abbau des d-Glukosamins. Mac Conkey untersuchte schon das α-Methylglykosid, ohne es zu diagnostischen Zwecken besonders empfehlen zu können, während Gruber ähnliche Resultate wie wir fand.

Von den vielen Produkten, die wir untersuchten, haben sich manche als nicht geeignet erwiesen. Salzsaures Glukosamin spaltete bei der Sterilisation geringe Mengen Salzsäure ab, die neutralisiert wurden, worauf es erst für unsere Untersuchungen brauchbar wurde. Es zeigte sich, daß alle Stämme diesen Aminozucker in verhältnismäßig kurzer Zeit vergären konnten. Tetraacetyl-d-Fruktose und Tetraacetyl-d-Glukose spalteten zu starke Mengen Säure ab und verhinderten so ein jedes Wachstum der Bakterien. Noch bedeutend stärker sauer erwies sich Aceto-brom- und Aceto-chlor-Glukose. α-d-Glukose-Pentaacetat und β-d-Glukose-Pentaacetat sind sehr schwer wasserlöslich; der typische Zuckercharakter ist diesen Präparaten auch durch die Substitution aller OH-Gruppen genommen. Kein Stamm vermochte sie anzugreifen. Der Schwefelzucker d-Glukose-Dibencylmerkaptal ist leider in Wasser so wenig löslich, daß er nicht untersucht werden konnte.

Uns schien es nun zweckmäßiger, die methylierten Zucker zu untersuchen. Um grundlegend festzustellen, welchen Einfluß eine Anhäufung von Methylgruppen im Zuckermolekül ausübt, untersuchten wir zuerst Pentamethylglykosid und Tetramethylglykosid. Doch war durch den chemischen Eingriff die Konstitution so geändert, daß keine Vergärung mehr eintrat. Die einfach methylierten Zucker,

soweit sie zugänglich waren, wurden jetzt in unsere Versuchsreihe eingeordnet.

α-Methylglykosid wurde von allen Stämmen der Lactis aërogenes-Gruppe vergoren. Die Stämme 5, 6, 7 und 11 vermochten es noch zu zerlegen, während sich sonst kein Vergärer fand.

β-Methylglykosid ist leichter spaltbar. Schon nach wenigen Stunden waren dieselben Stämme positiv wie beim α-Methylglykosid. Das Bild blieb ungefähr 2 Tage dasselbe. Dann zeigte sich, daß alle die Stämme, die mit einem schrägen Kreuz in der Tabelle stehen, auch noch positiv wurden. Unvergoren blieb es nur durch Stamm 18 und 20.

α-Methylgalaktosid. Auch bei diesen Zuckern finden wir Verhältnisse, die den Methylglykosiden verwandt sind. α-Methylgalaktosid wird von einigen sehr rasch zerlegt, während andere, zu denen vor allem die Acidi lactici-Gruppe gehört, bedeutend schwächer vergären, und erst nach mehreren Tagen denselben Säurewert erreichen. Der Králsche Stamm Acidi lactici (Hüppe) hat das Vergärungsvermögen, das gleichartige Vertreter dieser Gruppe immerhin noch zeigen, vollständig verloren.

β-Methylgalaktosid ist für alle Stämme, wieder mit Ausnahme des Králschen Stammes 17, leicht vergärbar. Schon nach einigen Stunden zeigt sich in allen Reagenzgläsern eine deutliche Rötung.

Bei einer kritischen Betrachtung des β-Methylglykosids und des β-Methylgalaktosids zeigt sich, daß diese Produkte eine für die Bakterien viel leichter zu zersetzende Substanz darstellen, als ihre Isomeren, die entsprechenden α-Verbindungen.

β-Methylfruktosid wird von keinem Stamm zerlegt, selbst von den überaus starken Vergärern der Lactis aërogenes-Gruppe nicht. Ein überaus interessanter Befund! Hier kommt, wie es scheint, die Sonderstellung der Ketose so recht zur Geltung. Eine einfache Methylierung schützt sie gegen jegliche Vergärung in unseren untersuchten Fällen, während die Fruktose selbst sich von den übrigen Hexosen in der leichten Vergärbarkeit durch nichts unterscheidet.

α-Methylarabinosid, als substituierte Pentose, ist sehr schwer angreifbar und wird nur unter genauer Einhaltung der angegebenen Versuchsbedingung (pH genau gleich 7,0 2proz. Lösung) zerlegt, und zwar von allen Stämmen der Lactis aërogenes-Gruppe und nur einem einzigen Coli-Stamm.

Die wertvollsten Präparate für unsere Zwecke fanden wir unter den Schwefelzuckern, von denen im voraus nicht anzunehmen war, daß sie durch Bakterien der Coli- und Aërogenes-Gruppe vergoren werden könnten.

Sowohl Benzylthioglykosid als auch Glukoseäthylmerkaptal wurden nur von Stämmen der Lactis aërogenes-Gruppe vergoren. Sämtliche anderen Stämme ohne Ausnahme vermögen nicht, diesen Schwefelzucker anzugreifen.

Wie weit nun diese bakteriellen Befunde imstande sind, der Zuckerchemie wertvolle Dienste zu leisten bei der Aufklärung der Isomerieverhältnisse und anderer Fragen, das gilt es, nach weiteren ergänzenden Versuchen auch mit neuem Material an anderer Stelle zu würdigen.

Die substituierten Zucker wurden zum Teil in der chemischen Abteilung des Instituts hergestellt, zum Teil stellten uns Herr Prof. Schlubach und seine Mitarbeiter in liebenswürdiger Weise manches

Vergärungstabelle.

Stamm	d-Glukose d-Galaktose d-Mannose d-Fruktose 1/2 %	l-Arabinose 1/2 %	l-Xylose 1/2 %	l-Rhamnose 1/2 %	Laktose 1/2 %	Maltose 1/2 %	Saccharose 1/2 %	Dulcit 1/2 %	Sorbit 1/2 %	Mannit 1/2 %	Adonit 1/2 %	Erythrit 1/2 %	Glyzerin 5 %	Inosit 1/2 %	α-Methyl-glykosid 1/2 %	β-Methyl-glykosid 1/2 %	α-Methyl-galaktosid 1/2 %	β-Methyl-galaktosid 1/2 %	β-Methyl-fruktosid 2 %	Tetra-methyl-glykosid 2 %	Penta-methyl-glykosid 2 %	α-Methyl-arabinosid 2 %	Benzylthio-glykosid 2 %	Glykoseäthyl-merkaptal 2 %
1. Bact. coli communis Stuhl	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+	+	× × × ×	+	+	+						
2. Urin																								
3. Urin																								
4. Milch																								
5. Bact. coli communior Stuhl	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+	+	+ + + × × ×	+	+	+						
6. Urin																								
7. Urin																								
8. Stuhl																								
9. Stuhl																								
10. Dyspepsie-Stuhl																								
11. Milch																								
12. Bact. coli Stuhl	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+	+	× × × ×	+	+	+						
13. Stuhl																								
14. Milch																								
15. Stuhl																								
16. Stuhl																								
17. Bac. acidi lactici Král	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+	+	×	+	+	+						
18. (Hüppe) Milch																								
19. Milch																								
20. Stuhl																								
21. Stuhl																								
22. Bact. lactis aërogenes Král (Escherich)	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+	+	× × × ×	+	+	+						
23. Dyspepsie-Stuhl																								
24. Dyspepsie-Stuhl																								
25. Milch																								
26. Stuhl																								

*) Die schrägen Kreuze (×) sollen ausdrücken, daß die Vergärung nach einigen Tagen erst einsetzte.

wertvolle Präparat zur Verfügung, wofür ihnen auch an dieser Stelle nochmals gedankt sei.

Ergebnisse der Vergärungstabelle.

Durch die Vergärung der Kohlehydrate haben wir versucht, die Grenzen zwischen den einzelnen Gruppen (Bact. col, Bac. acidi lactici und Bact. lactis aërogenes) schärfer zu ziehen und festzustellen, ob eine größere Anzahl Bakterien derselben Gruppe sich einheitlich verhalten.

Gruppe I. Bact. coli commune. Innerhalb dieser Gruppe finden wir die größte Verschiedenartigkeit, wie es bereits in der Vergärung von Saccharose und Dulcit zum Ausdruck kommt.

Dulcit vergären fast alle Stämme, mit Ausnahme von St. 12—16. Durch die Saccharose- und Dulcitvergärung glaubte Mac Conkey 2 Gruppen unterscheiden zu können, für die er die Begriffe Durhams: Coli communis und Coli communior gebrauchte. Wir müßten sogar 3 Gruppen unterscheiden, da St. 12—16, wie weiter oben ausgeführt, von der Acidi lactici-Gruppe abgetrennt werden müssen. Aber es erscheint uns gewagt, eine derartige Einteilung vorzunehmen, solange nicht ein größeres Untersuchungsmaterial vorliegt. Allerdings verhielten sich St. 1—4 im Wachstum (Traubenblattformen) und der Vergärung einheitlich. Doch differieren alle übrigen mehr oder weniger, besonders die Stämme 5—11, während zwischen den St. 12—16 wieder mehr Aehnlichkeit besteht.

Bei der großen Verschiedenheit innerhalb der Coli-Gruppe ist es wertvoll, durch die Vergärungsmethode verwandte Stämme identifizieren zu können. So läßt sich der Dyspepsie-Coli durch sein mangelndes Sorbit Vergärungsvermögen genau charakterisieren. St. 5—7 erwiesen sich auch als einheitlich; sie sind die entsprechenden Darm- und Urinstämme eines Patienten mit perniciöser Anämie. Loewenberg konnte in einem ähnlichen Fall serologisch die zusammengehörigen Darm-, Urin- und Blutstämme eines Patienten nachweisen.

Als charakteristischen Typus des Bact. coli möchten wir St. 1—4 auffassen, da sie vollkommen einander ähnlich erscheinen. Diese Stämme wie St. 12—16 vergären von den substituierten Kohlehydraten β-Methylglykosid, α- und β-Methylgalaktosid gut, doch nicht die schwerer angreifbaren. Inosit, α-Methylglykosid und α-Methylarabinosid werden jedoch teilweise von den St. 5—11 zerlegt, die sich bereits durch ihr Verhalten der Saccharose gegenüber als starke Vergärer gezeigt haben.

Gruppe II. Bac. acidi lactici. Die Stämme lassen sich durch ihr mangelndes Saccharose- und Dulcitvergärungsvermögen erkennen. Bei der Untersuchung mittels des Levineschen Nährbodens ergab sich jedoch, daß die St. 12—16 zur Coli-Gruppe zu rechnen waren.

Bac. acidi lactici erweist sich als ein schwacher Vergärer: Von den substituierten Kohlehydraten werden α-Methylglykosid nicht vergoren, während die von Bact. coli und Bact. lactis aërogenes spielend zerlegten Zucker β-Methylglykosid, α- und β-Methylgalaktosid nur teilweise und langsam gespalten werden.

Gruppe III. Bact. lactis aërogenes. Wir konnten diese Gruppe scharf von Bact. coli und Bac. acidi lactici trennen. Dulcit erwies sich nicht als ein absolut zuverlässig differentialdiagnostisches Mittel. Die stark ausgeprägten Vergärungseigenschaften zeigen sich durch die Zersetzung der schwer angreifbaren Kohle-

hydrate Inosit, α-Methylglykosid, α-Methylarabinosid und der beiden Schwefelzucker. Gerade diese letzteren erweisen sich als durchaus geeignet zur Untersuchung der Lactis aërogenes-Gruppe.

Die untersuchten Stämme verhalten sich alle einheitlich. Allerdings kommen in der Dulcit- und Adonitvergärung Unterschiede zum Ausdruck, für die sich morphologisch keine Gründe finden ließen.

Veränderung der Eigenschaften.

Jensen machte bereits die Erfahrung, daß die Vergärungseigenschaften sich jahrelang konstant erhalten. Die Untersuchung der Králschen über 20 Jahre alten Originalstämme ergibt dasselbe. Acidi lactici Král vergärt nur die für die anderen bereits schwer angreifbaren Methylgalaktoside nicht mehr. Dulcit vergären außer dem Králschen Lactis aërogenes-Stamm noch andere. Wenn es Twort gelang, durch künstliche Fortzüchtung den Bakterienstämmen neue Eigenschaften zu geben, so erscheint uns das jedenfalls wenig beweisend für die Ueberführung der einen in die andere Art. Ein Acidi lactici-Stamm, dem man Saccharosevergärungsvermögen angezüchtet hat, vermag noch lange nicht α-Methylglykosid und die anderen vier Kohlehydrate zu vergären. Wir haben solche Versuche ebenfalls angestellt und es bedarf monatelanger Umzüchtung, die wir durch Auswahl einzelner Kolonien auf Zuckerplatten durchführten, um einem Stamm auch nur eine neue Eigenschaft beizubringen. Mit einer derartigen etwas gewaltsamen Methode versuchte z. B. auch die Lyoner Schule die Zusammengehörigkeit des Typhus- und Coli-Bazillus zu beweisen.

Ebenso erscheinen uns die Beobachtungen Neumanns über Coli-ähnlich wachsende Lactis aërogenes-Stämme nicht den natürlichen Verhältnissen entsprechend. Bact. lactis aërogenes kann durch häufige Umzüchtung oder spontan unter ungünstigen Wachstumsbedingungen seine Schleimbildung verlieren. Damit ist er aber noch nicht in ein Bact. coli übergegangen, wenn die Kolonien sich auch sehr ähnlich sehen. Er hat nur eine wichtige Eigenschaft verloren, die er durch Tierpassage und unter günstigen Lebensbedingungen wiedererlangt. Es gibt sicher zahlreiche Abweichungen innerhalb der einzelnen Gruppen, jedoch ist Bact. lactis aërogenes ebenso wie der Pneumococcus Friedländer und Bact. cloacae eine so scharf abgegrenzte Varietät, daß man sie immer wieder von anderen unregelmäßig wachsenden abtrennen kann[1]). Es erwiesen sich in unseren Untersuchungen sämtliche 5 Lactis aërogenes-Stämme als genau einander entsprechend und es ließe sich durch weitere Untersuchungen sicherlich der Pneumococcus (Friedländer) ebenso von Varietäten abtrennen, die wir heute noch als atypische Formen auffassen. Allerdings ist die Möglichkeit zu Veränderungen unter den Kapselbakterien eine weit größere, da sie sehr labile Eigenschaften besitzen und bereits durch geringe äußere Einflüsse, wie Abkühlung, Sonnenbelichtung, in ihrem Wachstum beträchtliche Aenderungen erfahren.

Aus unserem Material, dessen Untersuchung noch weiter fortgesetzt wird, konnten wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Bei unseren Untersuchungen konnten Bact. pneumoniae (Friedländer) und Bact. cloacae (Jordan) bereits durch ihre schwache Laktosevergärung abgetrennt werden, obwohl sie sich im übrigen als starke Vergärer erwiesen.

Zusammenfassung.

1) Bact. lactis aërogenes (Escherich), Bac. acidi lactici (Hüppe) und Bact. coli commune lassen sich einwandfrei voneinander trennen. — 2) Der Levinesche Nährboden hat sich für die Einteilung in diese 3 Gruppen am besten geeignet und einwandfreie Resultate geliefert. — 3) Die bisher angewandten Zucker in Verbindung mit den neu eingeführten substituierten Kohlehydraten ermöglichen ein genaueres Studium der einzelnen Gruppen als bisher. Vor allem die Schwefelzucker sind für die Lactis aërogenes-Gruppe ein wichtiges differentialdiagnostisches Mittel geworden.

Literaturverzeichnis.

Bakteriologische Literatur.

Abel, Kapselbazillus. (Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 6. S. 515.) — Adam, Klin. Wochenschr. 1926. S. 338; Sitzungsber. d. Biolog. Ges. Hamburg. — Burk, zit. nach Conradi und Bierast. — Conradi u. Bierast, Bacterium coli commune. (Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 6. S. 482.) — v. Drigalski, Handb. d. mikrob. Techn. (Kraus-Uhlenhuth. Handb. I. 1923. S. 707.) — Durham, zit. nach Mac Conkey, Journ. Inf. Dis. 1905. p. 342. — Escherich, Die Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart 1886. — Escherich u. Pfaundler, Kolle-Wassermann. 1. Aufl. Bd. 2. 1903. S. 481. — Flügge, zit. nach Gruber. — Gruber, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Orig. Bd. 16. 1906. S. 654. — Hüppe, Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 2. 1884. — Jensen, Kälberruhr. (Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 6. S. 121.) — Jourdan, Journ. Hyg. Vol. 3. 1903. p. 1. — Konrich, zit. nach Conradi u. Bierast. — Kruse, Einführung in die Bakteriologie. Berlin 1920. S. 94. — Lehmann u. Neumann, Bakt. Diagnostik. 5 Aufl. 1912. S. 313. — Lentz, Dysenterie (Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. S. 927 ff.). Levine, Journ. Inf. Dis. Vol. 23. 1918. p. 43. — Linton, Amer. Journ. publ. Health. 1924. p. 95. — Löwenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. 1926. S. 439. — Mac Conkey, Journ. of Hyg. Vol. 5. 1905. p. 333; Vol. 6. 1906. p. 385; Vol. 9. 1909. p. 86. — Skinner, Journ. Inf. Dis. Vol. 34. 1924. p. 585. — Twort, Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. Vol. 79. 1907. p. 329.

Chemische Literatur.

E. Fischer, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. 28. S. 1151 ff. Bd. 27. S. 673. — Harworth, Journ. Chemic. Soc. London. Vol. 107. p. 8. — Königs, Knorr, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. 34. S. 979. — Pascu, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. 58. S. 509. — Pringsheim, Zuckerchemie. Leipzig 1925. — Pardie, Irvine, Journ. Chemic. Soc. London. Vol. 83. p. 1031. — Schlubach, Maurer, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. 57. S. 1686.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Bac. acidi lactici (Hüppe). Drigalski-Nährboden (72 Stunden bei 37°) 7fache Vergrößerung.

Fig. 2. Bact. lactis aërogenes (Escherich). Drigalski-Nährboden (72 Stunden bei 37°) 4fache Vergrößerung.

Fig. 3. Bact. coli. Levine-Nährboden (72 Stunden bei 37°) norm. Größe.

Fig. 4. Bac. acidi lactici (Hüppe). Levine-Nährboden (48 Stunden bei 37°) norm. Größe.

Fig. 5. Bact. lactis aërogenes (Escherich). Levine-Nährboden (48 Stunden bei 37°) norm. Größe.

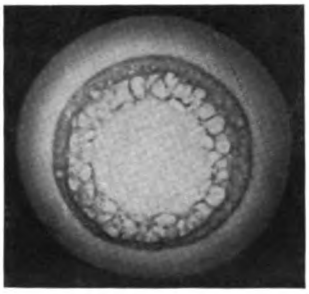


Fig. 1a

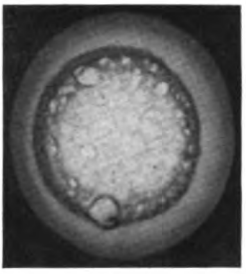


Fig. 1b

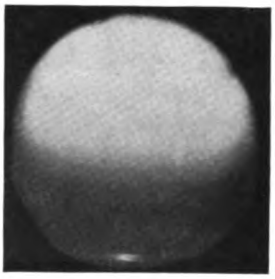


Fig. 2a

Fig. 3

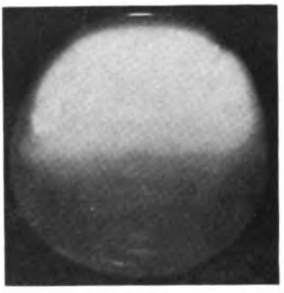


Fig. 2b

Fig. 4

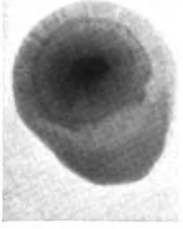


Fig. 5a

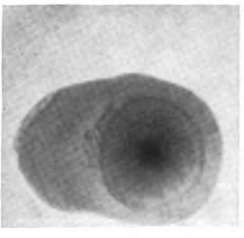


Fig. 5b

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Nachdruck verboten.

Bakteriologische und serologische Untersuchungen an Paratyphusstämmen, die aus den Kranken zweier Trinkwasserepidemien gezüchtet wurden.

[Aus dem Württ. Medizinischen Landesuntersuchungsamt in Stuttgart (Vorstand: Ministerialrat Dr. v. Scheurlen).]

Von Dr. **Hans Mayser.**

Bei dem gegenwärtigen Streit über die Stellung und Abgrenzung der verschiedenen Arten der Paratyphusbazillen möge es erlaubt sein, kurz über die Beobachtungen bei zwei Paratyphusepidemien zu berichten, die 1924 und 1925 in Württemberg vorkamen und durch die Trinkwasserversorgung verursacht worden waren. Besonders sollen hier die Untersuchungen an den Paratyphusstämmen in den Vordergrund gerückt werden, die anläßlich dieser Epidemien aus den Kranken gezüchtet wurden. An anderer Stelle wird der epidemiologische und hygienische Teil beider Epidemien erörtert werden.

Württemberg gehört zu denjenigen Ländern, die die geringste Typhussterblichkeit aufweisen, was wohl in der Hauptsache seinen über das ganze Land sich erstreckenden vortrefflichen Gruppenwasserversorgungen zu danken sein wird, die seit 1866, dem Jahr der Errichtung des staatlichen Bauamtes für das Wasserversorgungswesen, durchgeführt wurden und die von den rund 1900 Gemeinden des Landes über 1400 mit einwandfreiem Trinkwasser versorgen. Mit der Verminderung der allgemeinen Durchseuchung der Bevölkerung durch typhöse Erkrankungen, die, wie aus den Medizinalberichten zu ersehen ist, noch um das Jahr 1870 statthatte, dürfte aber auch — so muß angenommen werden — eine Verminderung der Immunität gegen Typhuserkrankungen einhergehen, auf die wohl das anscheinende Ansteigen der Typhus- und Paratyphuserkrankungen in kleineren, explosionsartigen Epidemien zurückzuführen sein dürfte. Auch wird der Gedanke nicht abzuweisen sein, daß darauf die schon beobachtete Bösartigkeit derartiger Typhusepidemien zurückzuführen ist.

Im Oktober 1924 traten in der Stadt Zuffenhausen, in der Nähe von Stuttgart, im ganzen 17 Fälle von typhösen Erkrankungen auf. Verursacht wurden sie durch die Versorgung eines Stadtteiles mit zweifelhaftem Trinkwasser, das aus Grundwasserschächten in der Aue des Neckartales stammte. Die Bedenklichkeit des Wassers war seit Jahren bekannt, weshalb Zuffenhausen sich an die staatliche Landeswasserversorgung anschloß. Nur als Reservepumpwerk blieb das alte Werk bestehen und wurde monatlich einmal an einem Tage in Betrieb gesetzt. Da im Jahre 1919 außerdem nicht allzu weit von dem Pumpwerk entfernt Wohnhäuser mit Abortgruben erbaut worden waren, so war dem Wasserwerksverband die Auflage erteilt worden, eine Chlorierungsanlage einzurichten, der jedoch nicht nachgekommen worden war.

Am 24. September 1924 war dieses Reservepumpwerk wieder für einen Tag in Betrieb gesetzt worden und am 1. Oktober trat der erste Krankheitsfall auf, dem die übrigen 16 bis zum 30. Oktober folgten. Alle lagen sonach in der bekannten Inkubationszeit des Typhus, die 6—45 Tage beträgt, und die offenbar auch für den klinisch typhusähnlichen Paratyphus gilt. In dem verdächtigen Wasser konnten bei den nachfolgenden Untersuchungen Typhus- und Paratyphusbazillen nicht mehr

nachgewiesen werden, jedoch bewies die hohe Keimzahl, ferner das Vorhandensein von Colibakterien, und drittens der chemische Nachweis von Ammoniak und Nitriten im Wasser die bestehende Verunreinigung. Andere infektiöse Quellen wurden trotz genauester Nachforschung nicht gefunden; die Milchversorgung war einwandfrei. Die örtliche gleichmäßige Verteilung der Erkrankungsfälle über den versorgten Stadtteil, die Uebereinstimmung des Tags der Wasserförderung mit der Inkubationszeit und die nachgewiesenen Verunreinigungen des Wassers lassen keinen Zweifel an der Tatsache einer Wasserleitungsepidemie aufkommen.

Der Krankheitsverlauf war bei allen Fällen der eines leichteren Typhus von 3—4 Wochen Dauer; Paratyphusbazillen wurden 4mal, deren Agglutinine im Blute aller 17 Fälle nachgewiesen.

Die 2. Epidemie war wesentlich größer; sie trat im August und September 1925 in Gmünd auf und erstreckte sich auf eine Zahl von 165 gemeldeten Fällen; jedoch darf nach allgemeinen Angaben, auch seitens der behandelnden Aerzte, angenommen werden, daß im ganzen wenigstens 400 Personen erkrankt waren. Auch diese Epidemie wurde durch die Wasserleitung hervorgerufen, und zwar durch eine Anlage, die schon über 30 Jahre lang ohne merkbaren Schaden die Stadt mit Wasser versorgt hatte. Auch hier spricht vor allem die gleichmäßige Verbreitung der Erkrankungsfälle über das Wasserversorgungsgebiet der Stadt für die Tatsache, daß es sich um eine Wasserleitungsepidemie handelte. Außerdem herrschte gerade zu der Zeit, in welcher, nach der Inkubationszeit berechnet, die Infektion stattgefunden haben mußte, — 6 Tage vor dem 1. Erkrankungsfall — Wassermangel, so daß die Sickerungen täglich völlig leer gepumpt wurden. Der vermutliche Absenkungstrichter reichte bei der Nähe der Sickerung am Remsfluß weit hinein in das Wildbett dieses Flusses; außerdem kreuzt die Sickerung einen Unterkanal dieses Flusses. Entgegen der geltenden Bauordnung entleerten 2 Mühlen, die nur etwa 500 m flußaufwärts an der Rems liegen, ihre Fäkalien unmittelbar in den Fluß. Im geförderten Trinkwasser waren Colibakterien nachweisbar; der Keimgehalt betrug über 400 im ccm.

Alle Erkrankungsfälle verliefen unter den Erscheinungen des mittelschweren und des leichteren Typhus. Zwei Todesfälle traten bei schon vorher geschwächten Frauen ein. Von den anläßlich dieser Epidemien bakteriologisch und serologisch untersuchten 195 Personen hatten 144 eine positive Widalsche Reaktion auf Paratyphus B, nicht selten bis zu einer Verdünnung von 1:3200. Aus Stuhlproben wurden 27mal, aus Urinproben 9mal, aus Blutproben 7mal Paratyphusbazillen gezüchtet. Auf Grund der kulturellen chemischen und serologischen Prüfung der Stämme beider Epidemien konnte die Diagnose Paratyphus B-Erkrankung schon beim ersten zur Untersuchung gelangten Fall gestellt werden, was zur Beruhigung nicht nur der Aerzte, sondern namentlich auch der Bevölkerung sehr wesentlich beitrug.

Ich habe von den Stämmen beider Epidemien im ganzen 8 eingehend nach allen Richtungen geprüft. Es kam mir dabei hauptsächlich auf eine Unterscheidung von den übrigen Arten der Paratyphus B-Gruppe an. Meine Vergleiche beziehen sich auf vom Reichsgesundheitsamt überlassene Stämme, Paratyphus B-Bitter 300, Paratyphus B-Breslau und Bac. enteritidis Gärtner.

Auf gewöhnlichem Nähragar, Gelatine, Drigalski-Agar, Endo-Agar und Gaßner-Nährböden war das Wachstum der Gmünder und Zuffenhausener Stämme für Paratyphus B typisch. Auf allen Platten wurden nach 24stünd. Aufenthalt bei 37° C und 3tägigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur dicke Schleimwälle gebildet. Auf Raffinoseagar trat bei einer Beobachtungszeit von 10 Tagen bei Brutschranktemperatur Knopfbildung ein. Auf Schräggelatine sammelte sich die größte Menge der gewachsenen schleimig aussehenden Bakterienmasse in den unteren Teilen des Impfstriches an. Ein richtiges Rutschen der Kolonien, wie man es nach den Beschreibungen von R. Müller er-

warten sollte, konnte ich nicht feststellen. Bei der Prüfung auf flüssigen Nährböden wurde aus Traubenzuckerbouillon von allen Stämmen Gas gebildet; aus Milchzucker wurde keine Kohlensäure abgespalten. In der nach Gildemeister modifizierten Nährlösung von Hetsch (Mannit-Lackmuslösung-Serumwasser) trat Gasbildung, Rötung und Eiweißfällung ein. In den übrigen zur Diagnose verwendeten geläufigen Nährböden trat die gleiche Veränderung auf, wie bei Paratyphus B-Bitter: Lackmusmolke wurde leicht gerötet und nach einigen Tagen gebläut, die Nährlösung Barsiekow I (Traubenzucker-Lackmus-Nutroselösung) zeigte Gasbildung, Ausfällung, Rötung; Barsiekow II (Milchzucker-Lackmus-Nutroselösung) blieb unverändert bei Bildung einer ganz kleinen Gasblase. Neutralrotagar wurde durch Gasbildung gesprengt, seine Farbe unter Fluoreszenz verändert. Die Indolprüfung in gewöhnlichem Peptonfleischwasser fiel negativ aus. Die Sternsche Glyzerinfuchsinbouillon wurde von den Gmünder Stämmen stark gerötet, von den Stämmen aus Zuffenhausen, die bei der Prüfung allerdings ein Jahr älter waren, in 24 Std. bis zu rotlila verändert. Im Mäusefütterungsversuch waren alle Stämme bei 10tägiger Beobachtung nicht pathogen.

Die serologische Untersuchung erstreckte sich sowohl auf die Prüfung aller Stämme mit polyvalenten und solchen Immunseren, die aus den mir überlassenen Stämmen des Reichsgesundheitsamtes von mir hergestellt waren, als auch auf Prüfung des Immunserums eines Gmünder Stammes mit den bekannten Reichsgesundheitsamtsstämmen. In den Verdünnungsreihen wurden unsere Stämme von polyvalentem Paratyphus B-Serum stets höher agglutiniert als von polyvalentem Paratyphus B-Breslau und Enteritidis Gärtner-Serum. Auch Absättigungsversuche mit polyvalenten Immunseren ließen auf Rezeptoren des Paratyphus B schließen. Die Ergebnisse der Absättigungsversuche mit monovalenten Kaninchenimmunseren sind in folgender Tabelle angeordnet.

Tabelle I.

	Monovalente Kaninchenimmunseren von											
	Paratyphus B Bitter 300				Paratyphus B Breslau				Bac. enteritidis Gärtner			
	abgesättigt mit											
	Paratyphus B Bitter 300	Paratyphus B Breslau	Bac. enteritidis Gärtner	Gmünd 738	Paratyphus B Bitter 300	Paratyphus B Breslau	Bac. enteritidis Gärtner	Gmünd 738	Paratyphus B Bitter 300	Paratyphus B Breslau	Bac. enteritidis Gärtner	Gmünd 738
Agglutiniert												
Stamm Gmünd 738	—	+	+	.	—	—	—	.	—	—	—	.
Stamm Zuffenhausen 25	—	+	+	.	—	—	—	.	—	—	—	.
Stamm Paratyphus B Bitter 300	.	.	.	—	.	.		+	.	.	.	—
Stamm Paratyphus B Breslau	.	.	.	—	.	.	.	—	.	.	.	—
Stamm Enteritidis Gärtner	.	.	.	—	.	.	.	—	.	.	.	+

+ = Agglutination. — = keine Agglutination.

Die Prüfung des aus einem Gmünder Stamm gewonnenen Immunserums erstreckte sich ebenfalls auf Auswertung in Verdünnungsreihen und Absättigungsversuche. Der Titer des Serums, geprüft mit Paratyphus B-Bitter, war höher als der mit Paratyphus B-Breslau und Bac. enteritidis Gärtner. Das Ergebnis der Absättigungsversuche kann aus der tabellarischen Aufstellung entnommen werden.

Tabelle II.

	Kaninchenimmunserum Gmünd 738 abgesättigt mit				
	Paratyphus B Bitter 300	Paratyphus B Breslau	Bac. enteritidis Gärtner	Gmünd 738	Gmünd 513
Agglutiniert					
Stamm Gmünd 738	± f	+	+	—	—
Stamm Paratyphus B Bitter 300	—	+	+	—	—

+ = Agglutination. f = ganz feinflockige Agglutination. — = keine Agglutination.

Die tödliche Dosis für weiße Mäuse lag bei subkutaner Injektion eines Gmünder Stammes am Prüfungstage (7. 10. 24) zwischen $^1/_{10}$ und $^1/_5$ Oese. Eine intraperitoneale Injektion von $^3/_{10}$ Oese tötete ein mittelschweres Meerschweinchen in 14 Std. In Schutzversuchen erwies sich eine Menge von $^1/_{100}$ ccm Immunserum noch wirksam bei intraperitonealer Injektion von einer Oese des Paratyphus B-Bitterstammes. Bei Infektion mit einer Oese Paratyphus B-Breslau verlängerte $^1/_{10}$ ccm des Immunserums Gmünd die Lebensdauer eines Meerschweinchens auf 5 Tage; gegen Infektionen mit einer Oese Bac. enteritidis Gärtner schützte auch $^1/_{10}$ ccm Immunserum Gmünd nicht mehr.

Aus allen hier angeführten Prüfungen der Stämme von Gmünd und Zuffenhausen und weiteren Prüfungen, welche hier der Uebersichtlichkeit halber nicht erwähnt wurden, geht hervor, daß es sich bei den Erregern beider Trinkwasserepidemien mit typhösem Verlauf um Paratyphus B hominis Schottmüller handelte. Stämme dieser Epidemien, sowie Kaninchenimmunserum ist das Medizinische Landesuntersuchungsamt jederzeit bereit, abzugeben.

Nachdruck verboten.

Eine spezielle physikalische Anreicherungsmethode für B. paratyphi „B".

[Aus dem Bakteriologischen Institut in Vel. Bečkerek, Jugoslavien.]

Von Dr. **Vojin Dimitrijevic-Speth**, Chef des Instituts.

In einer früheren Arbeit „Stichkultur in brutschrankflüssigem Nährmittel und Agardurchdringung" (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. H. 6) habe ich auf die Eigenschaft einer Mischung von wenig Agar mit Gelatine aufmerksam gemacht, in welcher sich die Mikroorganismen in nicht diffundierende-stichwachsende und graduell verschieden stark diffundierende-trübende unterscheiden lassen. Einen Schritt weiter ging J. Hempt, der in einer im „Glasnik" des Belgrader Gesundheitsministeriums, Heft 3—5, veröffentlichten Arbeit „Eigenschaften der Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Belgrader Medium bei veränderter Agarkonzentration" schrieb, daß bei einem Agargehalt von 0,85—1 Proz. und einem Gehalt von 5—15 Proz. Gelatine der Coli nur bis zur halben Höhe der Nährmittelsäule vordringt, und zwar in 86 Std. bei 1proz. Agar, während der Paratyphus „B" und „C" schon in 16 Std. den 1proz. Agar völlig durchdrungen haben. Nach Hempt scheitert der Versuch, die stärkere Diffusionsfähigkeit des Paratyphus „B" und „C" gegenüber dem Coli zu einem Isolationsverfahren zu verwenden, daran, daß der Coli auf dem Umwege über das Kondenswasser an der Glaswand entlang das ihm gesetzte Hindernis umgeht. In der Tat hat diese anscheinend geringe technische Schwierigkeit auch alle meine Versuche gehemmt, solange ich das Nährmittel in Glasgefäßen anwandte. Im Laufe der Zeit stellte ich 2 verschiedene Lösungen her, von denen die 2. wegen ihrer technischen Einfachheit allein für die Praxis zu empfehlen ist, während die 1. demonstrabler ist und sich zu eventuellen Kombinationen mit anderen Anreicherungsmethoden oder Experimenten eignet.

Erste Methode. Herstellung der Agargelatine: Zu Fleischwasser die üblichen Zusätze der Nährbouillon und 1 Proz. Agar in lamellis. Gleichzeitig mit dem Agar können schon jetzt 10 Proz. Gelatine zugegeben werden, da in diesen Versuchen der Schmelzpunkt der Gelatine keine Rolle spielt. Weiteres Verfahren wie bei der Agarbereitung. Filtration gelingt leicht durch Filtrierpapier im Dampftrichter, ist aber bei Verwendung nur zum Anreicherungsverfahren überflüssig. Abfüllen in Eprouvetten zu 5—10 ccm.

Künstlich mit Paratyphus „B"-Bazillen gemischter Stuhl wird in einem offenen Schälchen mit einem Holzstäbchen mit einigen Kubikzentimetern obiger Agargelatine verrührt. Ein etwa 12—15 cm langer Streifen Filtrierpapier, die man in einer Eprouvette oder Blechbüchse vorrätig halten kann, wird in einer Eprouvette mit frisch über der Flamme geschmolzener Agargelatine getränkt, wobei man steril verfährt. Dann wird der Streifen mittels einer Cornet-Pinzette frei senkrecht aufgehängt, das Schälchen mit dem Stuhl darunter gestellt, so daß der

Streifen etwa 1 cm tief eintaucht, und eine Glasglocke darüber gestülpt. Unter die Gasglocke muß ein nasses Brett gelegt werden, wodurch die Verdunstung verhindert wird. Das Ganze kommt nun in den Brutschrank, wo es 24 Std. verbleibt. Dann wird mit steriler Schere der Streifen zuerst oben und dann unten dicht über dem Eintauchrand abgeschnitten. Dieser Streifen wird nun mehrmals nebeneinander auf Drigalski-Agar abgedrückt. Auf der Platte zeigt sich nach genügendem Wachstum, daß der B. paratyphi „B" etwa ein Drittel weiter vorwärts in Reinkultur vorhanden ist, während der Coli nur in den unteren Abschnitten, und auch hier mit merklicher Hemmung, eingedrungen ist.

Zweite vereinfachte Methode. Gelatineagar, wie oben bereitet, wird mittels eines sterilen Diphtherietupfers noch heiß in parallelen Streifen ziemlich dick auf eine Drigalski-Platte aufgetragen. Das eine Ende der Streifen wird durch einen Tupferstrich verbunden. Auf diese Seite wird das Stuhlmaterial verimpft. Das andere Ende der Platte wird durch Unterkleben eines Korkes etwas höher gelagert, damit die verflüssigte Agargelatine eher nach der beimpften Seite zu fließt. Im Brutschrank entwickelt sich von der verimpften Seite den Strichen entlang ein Rasen, der allmählich in Einzelkolonien übergeht. Wenn auch nur wenige Keime von Paratyphus B vorhanden waren, entsteht doch am Rande nach oben zu eine Reinkultur von diesem.

Alles hier über Paratyphus „B" Gesagte gilt auch für Paratyphus „C" und vielleicht auch noch für andere Stämme aus der Paratyphus B-Gruppe, nicht aber für B. typhi abdominalis und für B. paratyphi „A", welche langsamer als Coli durchdringen. Von anderen hierhergehörigen Stämmen diffundiert der Bac. paratyphi vitulor. ebenfalls die 1proz. Agargel., jedoch etwas langsamer; B. murisepticum Koch diffundiert gleichschnell wie Paratyphus „B", ebenso Paratyphus „B"-Neunkirchen. Von Interesse ist es, daß das B. erysipelatis suum dagegen selbst in 0,2proz. Agargel. keine Diffusion zeigt, sondern Stichwachstum. Die geprüften Stämme waren von Prof. Přibram, Wien, bezogen.

Eine Weiterführung der Versuche in dieser Richtung ist mir hier vor allem wegen Mangels an einwandfreien Stämmen und wegen der sonstigen lokalen Schwierigkeiten nicht möglich. Ich richte daher an die modern eingerichteten deutschen Institute die Bitte, durch Nachprüfung der bisherigen Resultate und Weiterarbeit in dieser Richtung sowohl die diagnostische Bedeutung der Agargelatine als auch vorliegende Anreicherungsmethode zu erweitern und brauchbar zu machen. Besonders kämen hier die Institute in Bezirken mit endemischem Paratyphus „B" in Betracht.

Das Wesen der Agargelatine. Während die Verflüssigung der reinen Gelatine auf einem Zersetzungsvorgange beruht, ist die Durchdringung des Agars, dem in diesem Fall die Gelatine nur als Vehiculum beigegeben ist, von chemischen Veränderungen unabhängig. Dies folgt schon daraus, daß in einer gleichzeitig mit diffundierenden und nichtdiffundierenden Bakterien im Stich beimpften Agargelatine die nichtdiffundierende Art nicht imstande ist, hinter der diffundierenden nachzudringen. Auf dieser Tatsache beruht ja auch das vorliegende Verfahren. Die Gelatine spielt dabei keine eigene Rolle,

denn bei der angewendeten Brutschranktemperatur ist sie ja an sich flüssig und für alle Bakterien durchdringbar. In reinen Agarlösungen derselben Konzentration wachsen und diffundieren die Bakterien in ganz ähnlicher Weise, wie mit Gelatine zusammen. Ferner wäre die Diffusionsmöglichkeit nicht von der Konzentration des Agars abhängig, wenn es sich um einen chemischen Vorgang handeln würde oder es könnte hier höchstens ein zeitlicher Unterschied bestehen, wie bei der Gelatine. Es muß vielmehr in dünnen Agarlösungen ein nur für einen Teil der Bakterien passierbares Netzwerk bestehen, wie dies im allgemeinen für Gele und Gallerten durch moderne Methoden beweisbar ist. Daß auch die Bakterien von diesen Maschen mechanisch zurückgehalten werden, andererseits jedoch unter Vermittlung kapillarer Adhäsionskräfte und nicht einfach durch die wirksame Porengröße, geht aus folgendem hervor:

Bei den bekannten Filtrierpapiersteigversuchen Friedbergers werden in ähnlicher Weise wie in der Agargelatine die Bakterien geschieden in aufsteigende und in zurückbleibende. In einer noch nicht veröffentlichten Arbeit habe ich die Resultate nachgeprüft, die Methode erweitert und gefunden, daß viele Berührungspunkte zwischen der Agargelatine und dem Längslaufen der Bakterien durch Filtrierpapier bestehen. Eine frappierende Gleichheit bei beiden ist aber meine hierbei gewonnene Erfahrung, daß Galle im Filtrierpapiersteigversuche alle, auch die grampositiven, Bakterien ohne Ausnahme dazu bringt, daß sie ebenso hoch steigen, wie die anderen, und ebenso ist in einer 1proz. Agargelatine, der die Hälfte Galle zugesetzt wird, jeder Unterschied zwischen den Bakterien aufgehoben und alle diffundieren vollkommen. Bei der Galle handelt es sich nicht um eine Reaktion der lebenden Bakterien, denn dieselbe Erscheinung läßt sich auch an Anilinfarbstoffen beobachten. Die Steighöhe der meisten Anilinfarbstoffe in wässeriger Lösung beträgt nur wenige Zentimeter im Verlaufe von Stunden, während nach Zusatz von Galle dieselben Farben bis ans Ende vordringen, ohne daß die Flüssigkeit vorschreitet. Auch durch das Seitzsche Laboratoriumsfilter lassen sich mittels der Galle Typhusbazillen durchfiltrieren, jedoch ist ihre Zahl so gering, daß sie nur kulturell nachweisbar werden. In der Galle haben wir also ein Mittel, um durch kapillare Räume, die sonst die Bakterien zurückhalten würden, dieselben unter Aufhebung der Wirkung der Kappillarattraktion zum Durchströmen zu bringen. Das Eintreten derselben Wirkung bei der Agargelatine beweist ihre Verwandtschaft mit den kapillarraumhaltigen Filtermassen.

Eine besondere Besprechung verlangt noch die zweite Anreicherungsmethode. Durch das Aufstreichen der 1proz. Agargelatine tritt nach einigen Std. eine wesentliche Anreicherung derselben durch den Agar der Drigalski-Platte ein. Schon nach einer kurzen Strecke ist der Agargehalt des Aufstrichs so hoch, daß Coli nicht mehr vorwärtsschreitet; er bleibt sogar meist auf der mit Stuhl bestrichenen Stelle stehen, während der Paratyphus „B" noch lange vorwärtseilt, bis auch er im hochkonzentrierten Gelatineagar stecken bleibt. Auch das Eintrocknen spielt eine große Rolle dabei, denn wenn man dieses durch Heftpflasterverschluß ausschalten würde, so würde der Coli weit vordringen und der Paratyphus unter Bildung eines Rasens bis ans Ende des Aufstrichs vorwachsen. Bei Einhaltung der oben beschriebenen Methode enthält man dagegen an der Wachstumsgrenze

Einzelkolonien von Paratyphus. Ein Nebenvorteil ist der, daß man die Platten nicht zu trocknen braucht, weil die Austrocknung im Brutschranke von selbst den Wassergehalt des Aufstrichs reguliert. Aus demselben Grunde stören auch geringere Differenzen im Agargehalt der fertiggestellten Agargelatine nicht. Diese veränderten Bedingungen der 2. Methode kommen auf der fertigen Platte deutlich zum Ausdrucke, indem hier der Coli, je nach der Dicke des Aufstrichs von Agargelatine und nach der Feuchtigkeit der Brutschrankluft, am Orte des Materialaufstrichs kleben bleibt, oder nur bis 1 oder 2 cm vordringt, während der Paratyphus „B" mehrere Zentimeter weiter vordringt und auch im colihaltigen Gebiet diesen sichtlich überwuchert, wogegen in der 1. Methode der Paratyphus „B" nur um ein Drittel der Coli-Säule Vorsprung erlangt. Unbedingte Voraussetzung ist die Verwendung frischgegossener Platten.

Zusammenfassung.

In Agargelatine mit 1 Proz. wächst B. paratyphi „B" diffus trübend und rasch fortschreitend, während alle anderen Stuhlbakterien um ein Drittel langsamer vorwärtsdringen. Von 2 möglichen Anreicherungsmethoden, die auf dieser Tatsache basieren, ist die 2. einfacher und praktischer.

Sie besteht darin, daß die Agargelatine in Streifenform auf Drigalski-Agar aufgestrichen wird, deren eines Ende mit dem Material beimpft wird. Paratyphus „B" und „C" sowie einige andere pathogene Keime aus derselben Gruppe dringen bei Brutschranktemperatur auf dem Streifen mehr als doppelt so schnell vor, als die Stuhlbakterien und bilden im oberen Teil Rasen und Einzelkolonien von Paratyphus „B" usw. in Reinkultur.

Die Agargelatine ist ein feines Maschengerüst, in dem ähnliche kapillare Kräfte wirken wie im Filtrierpapier.

Endlich wird auf die differentialdiagnostische Bedeutung der quantitativen Agardiffusion aufmerksam gemacht mit einigen Beispielen bisherigen Erfolge, mit der Bitte an Institute mit reicher Bakteriensammlung, diese begonnenen Versuche systematisch auszubauen.

Nachdruck verboten.

Ueber Anreicherungsmethoden für die Typhus- und Paratyphus-Bazillengruppe.

[Aus der epidemiologischen Abteilung des Metschnikoff-Instituts in Moskau (Dir.: Prof. S. W. Korschun, Leiter der Abteilung Privat-Doz. O. G. Birger).]

Von Dr. **P. S. Rosen**, Dr. **M. P. Wagner-Sacharowa** und **L. S. Sobolewa.**

Die bisher übliche Untersuchungsmethodik zur Ausscheidung der Typhus-Paratyphus-Gruppe aus den Darmentleerungen kann nicht als ganz befriedigend angesehen werden, insbesondere da, wo es sich um Fäzesuntersuchungen der Bazillenträger handelt, da man niemals sicher sein kann, daß in allen Fällen noch geringe Mengen von Typhus-Paratyphus-Bazillen von uns nachgewiesen werden können. Das negative Ergebnis ist bekanntlich nicht ohne weiteres beweisend.

Von großem praktischem Interesse sind daher neuere Anreicherungsmethoden zum Nachweis dieser Bakterien-Gruppe. Aus diesem Grunde haben wir beschlossen, die kürzlich von Müller angegebene Anreicherungsmethode (Müller, Un nouveau milieu d'enrichissiment pour la recherche du bac. typhique et des paratyphiques. C. R. Soc. Biol. 1923. Bd. 83. p. 434) nachzuprüfen und gleichzeitig auch die alte Roth-Ficker-Hoffmannsche Anreicherungsmethode von Neuem einer Prüfung zu unterwerfen und den praktischen Wert dieser beiden Methoden miteinander zu vergleichen.

Das Anreicherungsmedium von Müller enthält Natriumtetrathyonat ($Na_2S_4O_6$) in einer Konzentration, die nach Angabe des Autors das Wachstum des Coli-Bazillus zurückhält, aber Typhus- und Paratyphus- und Ruhrbazillen in ihrer Entwicklung nicht schädigt. Diese elektive Anreicherungseigenschaft seines Nährbodens hat Müller an künstlich hergestellten Gemischen von Typhus-, Paratyphus- und Coli-Bazillen und nur in 2 Fällen unmittelbar an den Darmentleerungen geprüft.

Die Herstellung des Müllerschen Nährbodens geschieht in folgender Weise:

In die trockenen Kolben werden je 4,5 g Kreide eingeschüttet, mit Wattestopfen versehen und durch trockene Hitze sterilisiert. Darauf werden in jeden Kolben je 90 ccm einer gewöhnlichen Fleischpeptonnährbouillon oder Hottingerschen Bouillon eingegossen und im Autoklav wiederum sterilisiert. Gesondert bereitet man: 1) eine Hyposulfitlösung (50,0 Hyposulfit + Wasser bis zu 100 ccm), die in strömendem Wasserdampfe sterilisiert wird, und 2) eine Lugolsche Lösung (Jodi puri 20,0 + Kali jodati 25,0 + Wasser bis zu 100 ccm). Vor der Aussaat fügt man zum Gemisch (in den Kolben) je 10 ccm der Hyposulfitlösung und je 2 ccm der Lugolschen Lösung und schüttelt gut durch. Nun kann der Müllersche Nährboden in Mengen von je 10 ccm in Röhrchen abgefüllt werden. Die auf solche Weise hergestellten Nähr-

böden werden alsdann mit den zu untersuchenden Fäzes in Kolben mit 2—3 ccm oder in Röhrchen mit einigen Tropfen dickerer Emulsion (in physiol. Kochsalzlösung) beimpft. Nach 24stünd. Stehen im Brutschranke folgt in üblicher Weise eine Abimpfung auf Endo- oder Padlewski-Platten.

Es sei hier daran erinnert, daß das Nährmedium von Roth-Ficker-Hoffmann aus einer gewöhnlichen Fleischpeptonnährbouillon durch Zusatz von 0,1 Coffeinum purum und 0,7 ccm 0,1-proz. frischer Lösung von Kristallviolett zu je 100 ccm Bouillon hergestellt wird. Die Aussaat auf dem Nährboden von Roth-Ficker-Hoffmann halten wir 18 Std. im Brutschranke.

Unsere Arbeit zerfällt in 2 Teile: Zuerst prüften wir auf experimentellem Wege die Eigenschaften der Nährmedien von Müller und Roth-Ficker-Hoffmann, und zwar, indem wir auf dieselben die künstlich hergestellten Gemische von Typhus- und Coli-Bazillen aussäten. Weiter haben wir diese beiden Methoden auch auf ihre praktische Bedeutung durchgeprüft, indem wir sie zur Untersuchung des laufenden Materials unseres Laboratoriums benutzten.

Schon die ersten Versuche haben uns gezeigt, daß bei der Aussaat der Gemische von Typhus- und Paratyphusbazillen auf die zu untersuchenden Nährböden mit nachfolgender Abimpfung auf Platten der Typhusbazillus zur Entwicklung kommt, während das Bacterium coli im Wachstum gehemmt wird.

Um uns darüber Klarheit zu verschaffen, ob Coli-Bazillen im Vergleich mit Typhusbazillen wirklich gegen Natriumtetrathyonat empfindlicher sind, haben wir vor allem Versuche mit Reinkulturen dieser Mikroben angestellt.

Selbstverständlich wurden alle Versuche 2—3 oder mehrere Mal von uns wiederholt; hier führen wir nur je ein Protokoll aus einer Reihe von Versuchen in jeder Richtung an. Zu diesem Zwecke (Versuch 1) haben wir einen Nährboden von Müller hergestellt (in Röhrchen), der 3fache Mengen von Lugolscher Lösung und 2fache von Hyposulfitlösung, d. h. 6 ccm bzw. 20 ccm auf 90 ccm Bouillon enthält. Diese Röhrchen wurden mit 9 verschiedenen Stämmen von Coli-Bazillen und 4 Stämmen von Typhusbazillen beimpft. Die am folgenden Tage ausgeführte Ueberimpfung auf Platten mit dem Nährboden von Padlewski ergab auf allen ein üppiges Wachstum von Typhusbazillen, während Coli-Bazillen nicht gewachsen waren. Dagegen wurde bei der Ueberimpfung auf schwachalkalischen Agar auch das Wachstum von Coli-Bazillen stets beobachtet.

In der Absicht, das Schicksal der Coli-Bazillen auf dem Nährboden von Müller weiter zu verfolgen, haben wir (Versuch 2) 2 Röhrchen mit 2 verschiedenen Stämmen beschickt, gut durchgeschüttelt, sogleich je 0,1 des Inhalts auf Petri-Schälchen mit schwach alkalischem Agar ausgesät und diese Petri-Schälchen und beide Röhrchen auf 18 Std. in den Brutschrank gestellt. Aus diesen Röhrchen wurden in derselben Weise neue Agarplattenserien angelegt. Die in beiden Serien gezüchteten Kolonien wurden gezählt. Dabei ergab sich, daß die Zahl der Kolonien bedeutend abgenommen hatte, z. B. für einen der Stämme 5, 2 und 0 Kolonien in der 2. Serie gegen 90, 50 und 20 Kolonien in der 1. Es wurde also festgestellt, daß Natriumtetrathyonat auf Coli-Bazillen eine verderbliche Wirkung ausübt, wenngleich ein Teil der ausgesäten Bazillen nach 24 Std. noch lebensfähig war.

Zur genaueren Erforschung, in wie weit die Nährböden von Müller und Roth-Ficker-Hoffmann dem Typhusbazillus, verglichen mit dem Coli-Bazillus, günstigere Wachstums- und Vermehrungsbedingungen bieten, und auch zur Aufklärung ihres Vergleichswertes wurde folgendermaßen verfahren (Versuch 3):

2 aus 24stünd. Schrägagarkulturen in physiol. Kochsalzlösung hergestellte Aufschwemmungen von Typhus- und Coli-Bazillen von annähernd gleicher Dicke wurden im Verhältnis von 1:100, 1:1000, 1:10000 und 1:100000 gemischt. (Der Zähler gibt die Menge der Aufschwemmung der Typhusbazillen und der Nenner die der Coli-Bazillen an.) Mit jeder dieser Mischungen wurden Röhrchen mit Nährböden von Müller und Roth-Ficker-Hoffmann und mit gewöhnlicher Nährbouillon beimpft und am folgenden Tage auf Padlewski-Platten überimpft. Die Versuchsergebnisse zeigt Tab. I:

Tabelle I. (Versuch Nr. 3.)

	Typh.-Baz.: Col.-Baz. =			
	1:100	1:1000	1:10000	1:100000
Resultat der Ueberimpfung auf Platten nach 24 Std.			**Nachgewiesene Mikrobenart:**	
Müller			**nur Typhusbaz.**	**nur Typhusbaz.**
Roth-Ficker-Hoffmann	Colibaz. 3 = Typhusbaz. 2 (spärliche Kolonien)	Colibaz. 10 = Typhusbaz. 1	**zweifelhaftes Ergebnis**	**kein Wachstum**
Bouillon			**nur Colibaz.**	**nur Colibaz.**

Die so gewonnenen Reinkulturen wurden einer Agglutinationsprüfung mit spezifischem Serum (Titer von 15000) unterworfen. Die durch Müllersche und Roth-Ficker-Hoffmannsche Nährmedien hindurchgeleiteten Reinkulturen ergaben folgende Resultate:

Tabelle II.

Müller	Roth-Ficker-Hoffmann
1:100, 1:1000, 1:10000 } Agglutination	1:5000, 1:10000, 1:500000 } keine Agglutination
1:100000 keine Agglutination	

Kulturen, die bei diesem Versuch keine Agglutinationsreaktion gegeben hatten, wurden auf Kohlehydratnährböden durchgeführt. Die Stämme zeigten auf denselben alle für den Typhusbazillus typischen Wachstumsverhältnisse.

Es sei hier noch 1 Protokoll des analogen Versuchs angeführt, aus dem auch zugleich absolute Zahlen der Bazillen zu entnehmen sind: (Siehe Tab. III, S. 296.)

In allen Fällen wurden die gewonnenen Kulturen der Typhusbazillen durch spezifisches Serum gut agglutiniert.

Auf Grund dieses und einer Reihe analoger Versuche haben wir den Schluß gezogen, daß die zu untersuchenden Nährböden dem Wachstum des Typhusbazillus das Uebergewicht über den Coli-Bazillus ver-

Tabelle III. (Versuch Nr. 4.)

Verhältnis von Typhusbazillen zu Coli bazillen	Absolute Mengen von Keimen von Typhusbazillen (in Bruchteilen der Oese)	Bouillon	Roth-Ficker-Hoffmann	Müller
1:100	0,0005	Reinkulturen von Colibazillen	Wachstum der Colibaz. spärlich; keine Kolonien von Typhusbaz.	Reinkultur von Typhusbazillen
1:1000	0,00 005			
1:10 000	0,000 005			
1:100 000	0,0 000 005			kein Wachstum
1:1 000 000	0,00 000 005			

schaffen: z. B. ist aus einem Gemisch von Typhus-Coli-Bazillen bei der Aussaat auf Müllerschen Nährboden im Verhältnis von 1:100 000 Typhus-B.:Coli-B.) und bei der Aussaat auf Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährboden im Verhältnis von 1:1000 die Abscheidung von Typhusbazillen leicht zu erzielen. Bei Aussaat auf Platten gelingt es nicht selten, auf diesen schon auch Reinkulturen zu züchten. Der Müllersche Nährboden, verglichen mit dem Roth-Ficker-Hoffmannschen ergibt bessere Resultate. Dieser Nährboden schafft für die Vermehrung der Typhusbazillen günstigere Bedingungen, hemmt das Wachstum nicht in solchem Maße, wie es bei dem Roth-Ficker-Hoffmann schen Nährboden der Fall ist. Der hemmende Einfluß des Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährbodens auf das Wachstum aller, auch der Typhusbazillen, wurde von uns mehrmals beobachtet.

Zur genaueren Aufklärung dieser Frage wurde folgender Versuch (Nr. 5) angestellt.

Einige Röhrchen mit Müller- und Roth-Ficker-Hoffmann-schen Nährböden wurden mit Reinkulturen von Typhusbazillen in fallenden Mengen beimpft und am folgenden Tage je 0,1 des Gehalts jedes Röhrchens auf Schrägagar überimpft.

Tabelle IV. (Versuch Nr. 5.)

Impfmenge von Typhusbaz. in Bruchteilen der Oese	Roth-Ficker-Hoffmann	Müller
1:10 000	—	+
1:1000 000	—	+
1:10 000 000	—	+
1:100 000 000	—	—
1:1 000 000 000	—	—

Dieser Versuch zeigt, daß auf dem Roth-Ficker-Hoffmann-schen Nährboden nur bei Beimpfung von größeren, verglichen mit dem Müllerschen Nährboden, Mengen von Keimen ein Wachstum der Typhusbazillen zu erzielen ist.

Im Laufe unserer Untersuchungen hatten wir mehrmals Gelegenheit, aus den farblosen Kolonien auf Endo- oder Padlewski-Platten Reinkulturen auszuscheiden, die mit spezifischem Serum keine Agglutination gaben. Das kann auf 2fache Weise erklärt werden: entweder wurden durch Roth-Ficker-Hoffmannsche und Müllersche Nährböden die Antigeneigenschaften der Typhusbazillen geschädigt, oder es

büßten die Coli-Bazillen infolge der Passage durch diese Nährböden ihre Eigenschaft, Laktose zu vergären, ein und begannen nun, auf farbigen Nährböden farblose Kolonien zu geben. Diese letzte Vermutung fällt in vielen Fällen weg, weil die Nachprüfung der fermentativen Fähigkeit der betreffenden Reinkultur gegenüber den verschiedenen Kohlehydraten in vielen Fällen uns gezeigt hat, daß wir es mit einer Reinkultur des Typhusbazillus zu tun haben. Wir beschlossen nun, um diese Frage weiter aufzuklären, eine Reihe von speziellen Untersuchungen auszuführen:

Röhrchen mit Müllerschen und Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährböden wurden mit 17 verschiedenen Stämmen von Coli-Bazillen beimpft und am folgenden Tage die so entstandenen Kolonien auf Hißsche Nährböden (mit Laktose) und auf Endo- und Padlewski-Platten überimpft. Es wurde dabei festgestellt, daß alle diese Stämme Eigenschaft, Laktose zu spalten, aufwiesen und daß alle die zu untersuchenden Nährböden auf die Fähigkeit der Coli-Bazillen, Laktose zu vergären, keinen Einfluß haben.

Aus dem Protokoll Nr. 3 (s. oben) ist ersichtlich, daß die durch den Müllerschen Nährboden geleiteten Typhusbazillen mit spezifischem Serum nicht zur Titergrenze agglutiniert wurden und daß die durch Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährboden durchgeleiteten gar keine Agglutination aufwiesen. Diese partielle oder totale Schädigung der Antigeneigenschaften der Mikroben wurde von uns mehrmals beobachtet.

Es wurde auch noch folgender Versuch angestellt (Versuch Nr. 7):

Eine Reinkultur von Typhusbazillen wurde auf Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährboden ausgesät und dann Abimpfungen 1) auf Schrägagar und 2) auf Endo- und Padlewski-Platten mit nachfolgender Fortzüchtung auf Schrägagar vorgenommen. Die von Endo-Platten auf Schrägagar überimpfte Kultur gab keine Agglutination, die vom Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährboden direkt auf Schrägagar überimpfte aber gab positives Resultat. Dieser Versuch wurde von uns einige Mal, aber mit inkonstantem Ergebnis, wiederholt.

Die von den Mikroben eingebüßte Agglutinabilität kann nach einigen Passagen durch Schrägagar oder bei Züchtung im Brutschranke bei 40° manchmal wiederhergestellt werden. Es gelang uns aber nicht immer, auf diese Weise die Agglutinabilität der Bakterien wiederherzustellen. Wir haben indessen unsere Untersuchungen in dieser Richtung nicht fortgesetzt.

Gleichzeitig mit der experimentellen Prüfung wurden diese beiden Anreicherungsmethoden von uns auch in den alltäglichen Laboratoriumsbetrieb der hiesigen epidemiologischen Abteilung eingeführt. Es wurden hier für die betreffende Periode 362 Stuhluntersuchungen auf Typhus- und Paratyphusbazillen ausgeführt. Von diesen 362 Darmentleerungen wurden ausgesät:

75 Fäzes direkt auf Endo- und Padlewski-Platten, und gleichzeitig auch auf die Nährböden von Müller und von Roth-Ficker-Hoffmann.

117 Fäzes auf Endo- und Padlewski-Platten und auf Nährboden von Müller. — 74 Fäzes auf Endo- und Padlewski-Platten und auf den Nährboden von Roth-Ficker-Hoffmann. — 89 Fäzes nur auf Roth-Ficker-Hoffmannschen Nährboden und 7 Fäzes nur auf Endo- und Padlewski-Platten.

Aus der Gesamtzahl von 362 untersuchten Darmentleerungen stammen 87 von kranken und 275 von gesunden Menschen. Es wurden

im ganzen 59 Stämme von Bazillen der Typhus-Coli-Gruppe nachgewiesen, darunter 40 Stämme von kranken (also 46 Proz. positiver Ergebnisse) und 19 Stämme von gesunden Menschen (also 6,9 Proz. positiver Ergebnisse).

Leider sind die beim hiesigen Laboratorium eingegangenen Darmentleerungen von zweifelhafter Herkunft: es ist uns daher unbekannt, an welchem Krankheitstage sie entnommen wurden. Nicht selten sind sie auch in nicht frischem Zustande (aus den Kreisen des Gouv. Moskau) eingegangen. Außerdem stammte ein Teil der Fäzes ohne Zweifel von nicht Abdominaltyphuskranken, sondern von Abdominaltyphusverdächtigen, welche sich nicht als solche erwiesen.

Alle diese Umstände erklären genügend, warum bei uns der Prozentsatz der positiven Ergebnisse, verglichen mit dem Prozentsatz der in der Literatur zu findenden nicht so hoch ist. Es sei aber hinzugefügt, daß die in der Literatur zu findenden Angaben sich auf Kranke mit klinisch sichergestellter Diagnose von Abdominaltyphus beziehen:

Von 59 aus Darmentleerungen ausgeschiedenen Stämmen erwiesen sich:

11 Stämme als echte durch spezifisches Serum agglutinierbare Abdominaltyphusbazillen. — 2 Stämme als Abdominaltyphusbazillen, die durch spezifisches Serum aber nicht agglutiniert wurden. — 17 Stämme als agglutinierbare Paratyphus B-Bazillen — 1 Stamm als agglutinierbare Paratyphus A-Bazillen und 28 Stämme als Bazillen der Paratyphus-Gruppe, die aber durch spezifisches Paratyphus A-, Paratyphus B- und Bac. enter. Gärtner-Serum nicht agglutiniert wurden.

Eine genauere Analyse der gewonnenen Resultate ergibt (Tab. V):

Tabelle V.

Aussaat direkt auf Endo- und Padl.-Platten		Aussat auf die zu untersuchenden Anreicherungsnährböden	Zahl der Untersuchungen
Untersuchungsergebnis	—	+	23
	+	—	13
	+	+	18

Um unsere Befunde noch mehr zu detaillieren sei hier Tab. Nr. VI angeführt.

Tabelle VI.

a)

Aussaat direkt auf Endo- und Padl.-Platten		Aussaat auf den Nährboden von Müller	Zahl der Untersuchungen
Untersuchungsergebnis	—	+	18
	+	—	14
	+	+	7

b)

Aussaat direkt auf Endo- und Padl.-Platten		Aussat auf den Nährboden Roth-Ficker-Hoffmann	Zahl der Untersuchungen
Untersuchungsergebnis	−	+	5
	+	−	8
	+	+	15

c)

Aussaat auf den Nährboden von Müller		Aussaat auf den Nährboden von Roth-Ficker-Hoffmann	Zahl der Untersuchungen
Untersuchungsergebnis	−	+	9
	+	−	11
	+	+	5

Wie aus diesen Zusammenstellungen hervorgeht, steigt bei der Anwendung der Anreicherungsmethoden die Prozentzahl positiver Befunde auf 74; man kann aber auf das übliche Verfahren der Aussaat der Darmentleerungen direkt auf Endo- und Padlewski-Platten auch nicht verzichten, weil in 31 Proz. aller Fälle das positive Resultat nur durch dieses Verfahren zu erzielen war, während das Anreicherungsverfahren nach Müller und Roth-Ficker-Hoffmann negativ ausfiel.

Da unsere angeführten Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der Anreicherungsmethoden für die Ausscheidung von Typhusbazillen aus Fäzes uns zu günstigen Resultaten geführt hatten, suchten wir diese Methoden auch zum Nachweis von Abdominaltyphusbazillen im Wasser anzuwenden.

Zu diesem Zwecke haben wir die übliche Herstellungsart des Müllerschen Nährbodens etwas modifiziert.

Man schüttet in eine große 3 Liter Flasche 150,0 g Kreide und gießt nach Sterilisieren durch trockene Hitze 400 ccm von unverdünnter Höttingerscher Stammlösung + 15,0 NaCl + 0,6 KCl + 0,6 $CaCl_2$ hinzu und sterilisiert das Gemisch im Autoklav. Alsdann gießt man in diese Flasche das zu untersuchende Wasser bis zur Gesamtmenge von 3 Liter ein. Zu diesem Gemisch werden dann noch 300 ccm einer Natriumhyposulfit- und 60 ccm Lugolscher Lösung zugesetzt.

Auf diese Art wurde von uns Leitungswasser untersucht und zwar so, daß zu verschiedenen Teilen des Wassers ein Gemisch von Typhus- und Coli-Bazillen im Verhältnis von 1:1, 1:100 und 1:1000 zugesetzt wurde, so daß je 1 ccm Wasser jedesmal 1/10000000 Oese Typhusbazillen enthielt. Von dieser Kulturflüssigkeit wurden gewisse Mengen auf Serien von Endo- und Padlewski-Platten ausgesät mit dem Ergebnis, daß diese Platten zahlreiche Kolonien der Typhusbazillen aufwiesen.

In der Laboratoriumspraxis gelang es uns nur 1mal, dieses Verfahren bei Gelegenheit einer Untersuchung von 3 kleinen Wasserbehältern anzuwenden. Es wurden dabei einige typhusähnliche Stämme nachgewiesen. Wir sind demnach noch nicht imstande, über die Leistungsfähigkeit dieser Methode für Wasseruntersuchungen ein end-

gültiges Urteil abzugeben, halten es aber für wünschenswert, diese Methode einer weiteren Prüfung zu unterwerfen.

Die Ergebnisse unserer Arbeit führen demnach zu folgenden Schlüssen: 1) Der Typhusbazillus ist gegen Natriumtetrathyonat viel weniger empfindlich, als der Coli-Bazillus. — 2) Der Nährboden von Müller gibt dem Typhusbazillus ein Uebergewicht über den Coli-Bazillus — in einigen Versuchen sogar bei Mischungen von Typhus- und Coli-Bazillen im Verhältnis von 1:100 000. Der Nährboden von Roth-Ficker-Hoffmann begünstigt auch in sehr hohem Maße die Ueberwucherung der Typhusbazillen —, in einigen Versuchen sogar im Verhältnis der Typhusbazillen zu Coli-Bazillen von 1:1000. — 3) Der Nährboden von Müller gibt bei der Untersuchung künstlich hergestellter Bakteriengemische bessere Resultate, als der Nährboden von Roth-Ficker-Hoffmann. Der letztere verglichen mit dem von Müller, hält das Bakterienwachstum im allgemeinen, darunter auch das Wachstum der Typhusbazillen, ganz außerordentlich zurück, was als ein Mangel anzuerkennen ist. — 4) Der bei der Passage durch Nährböden von Müller und Roth-Ficker-Hoffmann und darauf auf Endo- oder Padlewski-Nährsubstraten gezüchtete Typhusbazillus büßt manchmal seine Agglutinabilität ein. Wir haben den Eindruck gewonnen, daß durch den Nährboden von Roth-Ficker-Hoffmann, verglichen mit dem von Müller, die Antigeneigenschaften der Bakterien mehr geschädigt werden. — 5) Die fermentativen Eigenschaften der Coli-Bazillen bleiben bei ihrer Passage durch Nährböden von Müller und Roth-Ficker-Hoffmann unverändert. — 6) Bei der Anwendung der Nährböden von Roth-Ficker-Hoffmann und Müller im alltäglichem Laboratoriumsbetriebe stieg der Prozentsatz positiver Befunde auf 74; in 31 Proz. aber ist das positive Resultat nur bei direkter Aussaat auf Endo- und Padlewski-Platten zu erzielen. Es ist also zweckmäßig und im alltäglichen Laboratoriumsbetriebe sogar unentbehrlich, irgendeine von diesen Anreicherungsmethoden zu benutzen (wir persönlich geben dem Nährboden von Müller den Vorzug), aber gleichzeitig ist es auch nötig, die zu untersuchenden Darmentleerungen direkt auf Platten mit Differenzialnährböden (Nährböden von Endo, Padlewski, Conradi, Drigalski u. a.) auszusäen. — 7) Weitere Versuche mit Anwendung des Nährbodens von Müller zur Wasseruntersuchung sind erwünscht.

Nachdruck verboten.

Vermehren sich Tuberkelbazillen in dem nach J. Schiller bearbeiteten Sputum?

[Aus der Immun-Biologischen Abteilung des Odessaer Tuberkulose-Instituts (Dir.: Dr. J. I. Rosenblit, Abteilungsleiter: Dr. J. N. Kahan).]

Von Dr. **J. N. Kahan** und **L. L. Seidenberg.**

Auf dem im September 1925 in Odessa stattgefundenen therapeutischen Kongreß referierte J. Schiller, Leiter des Dispensairs-Laboratoriums des Ukr. Roten Kreuzes, Odessa, über das von ihm für die Züchtung von Tuberkelbazillen im Sputum angewendete Verfahren und über die von ihm dabei erzielten außerordentlich günstigen Resultate.

Dieses im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. H. 2 mitgeteilte Verfahren besteht in Folgendem:

> Das Sputum wird zu gleichen Teilen mit 75proz. (Volumenprozent) Glyzerinlösung vermengt, man setzt 2—5 Proz. Glukose hinzu (im Verhältnis zur Gesamtmenge der Mischung) und stellt das Ganze für 24 Std. in den Thermostat bei 37° C. Nach 24 Std. wird die obere flüssige Schicht des glyzerinisierten Sputums abgegossen, der übrig gebliebene dickflüssige Satz wird durch Auswaschen und Zentrifugieren möglichst vom Glyzerin befreit. Aus dem ausgewaschenen Satz werden Ausstriche gemacht, die fixiert und nach Ziehl gefärbt werden.

Wie der Urheber des Verfahrens, J. Schiller, persönlich rät, ist es besser 2—3 Färbungen vorzunehmen und dabei das Fuchsin bis zum Siedepunkt zu erhitzen. Die Entfärbung ist vorsichtig unter Anwendung von 3—5proz. Schwefelsäure vorzunehmen, zur Nachfärbung ist Methylenblau zu gebrauchen.

Bei der Untersuchung eines Sputums mit unbedeutendem Tuberkelbazillengehalt mit Hilfe seiner Methode hat Schiller bereits nach 24 Std. in den Ausstrichen eine erhöhte Anzahl von Tuberkelbazillen gefunden. In der Folge ist ihre Zahl auch weiter gestiegen und erreicht ihren Höhepunkt nach 1—2monatigem Stehen des Sputums im Thermostat. Später ist es Schiller öfters gelungen, im Sputum von Kranken des 1. und 2. Stadiums Bazillen dort zu entdecken, wo unmittelbare Untersuchungen und die Anwendung der üblichen Methoden der Anreicherung negative Resultate ergeben haben. Außer Tuberkelbazillen hat Schiller öfters auch säurefeste Saprophyten gefunden, und zwar nicht nur im Sputum tuberkulöser Kranken (in 28 Proz. des 1. Stadiums, 11 Proz. des 2. Stadiums), sondern auch bei gesunden Individuen (22 Proz. der Fälle).

Der verlockende Gedanke, einen solchen Nährboden zu schaffen, auf dem sich nur säurefeste Bazillen entwickeln konnten, die scheinbare Einfachheit der Methode, insbesondere aber die von Schiller erzielten vielversprechenden Resultate haben uns bewogen, die erwähnte Methode zu erproben, umsomehr da wir im Laboratorium unseres Instituts für Tuberkuloseforschung stets über genügende Auswahl an passendem Material verfügen. Unsere Arbeit verlief nach 3 Richtungen:

1) Sowohl positives, mit genügendem Tuberkelbazillengehalt, als auch negatives Sputum von Kranken im 1. und 2. Stadium wurde nach dem Verfahren von Schiller unter genauer Einhaltung aller von ihm betonten technischen Einzelheiten bearbeitet; 2) ferner nahmen wir parallele Sputumuntersuchungen vor nach Schiller und nach einer der üblichen Anreicherungsmethoden. Unter den zahlreichen, meist wohlbekannten Methoden haben wir ein verhältnismäßig neues, 1922 von Bezançon und seinen Mitarbeitern veröffentlichtes Verfahren (s. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 76) gewählt. Bei diesem Verfahren wird das Sputum in ein Probierglas gefüllt und für 3—5 Tage in den Thermostaten bei 37° gestellt; dort verdünnt es sich teilweise und bildet 2 Schichten: eine dünnere Oberschicht und eine dickere Unterschicht. Aus dieser letzteren werden Ausstriche gemacht und in der üblichen Weise bearbeitet. Nach der Art der physikalischen Einwirkung und Veränderung des Sputums hat dieses Verfahren Aehnlichkeit mit demjenigen Schillers. In beiden Fällen bringt das Material eine bestimmte Zeit im Thermostat zu, in beiden Fällen vollzieht sich eine Differenzierung des Sputums in zwei Schichten und wird der Satz untersucht. Der prinzipielle Unterschied ist folgender: während das beim Schillerschen Verfahren hinzugesetzte Glyzerin die Entwicklung der Mehrzahl der im Sputum befindlichen Bakterien hemmt, entwickelt sich bei Anwendung des Verfahrens von Bezançon die bakterielle Flora des Sputums vollkommen unbehindert und fördert seine Zersetzung und Verflüssigung. Dieser letztere Umstand ist ein wesentlicher Mangel des letzteren Verfahrens, da das faulende Sputum einen schlechten Geruch verbreitet, was beim Verfahren von Schiller durchaus nicht der Fall ist. Das ist aber auch die einzige negative Seite der Bezançon-Methode, abgesehen davon, daß sowohl bei der Schillerschen als auch bei der Bezançon-Methode man gezwungen ist, mit einem Material zu hantieren, welches lebendige Infektionskeime enthält. Das ist aber zweifellos ein Minus, besonders bei einer Massenbearbeitung von Sputum und bei dessen unaufhörlicher Umfüllung von Glas in Glas. Die 3. Serie unserer Experimente bestand darin, daß wir dieses nach Schiller glyzerinisierte Sputum in zwei ungefähr gleiche Teile teilten und eines derselben in einem Wasserbad 20—30 Min. lang sieden ließen. Beide Teile kamen in den Thermostat bei 37° und wurden von Zeit zu Zeit untersucht unter jedesmaligem Zentrifugieren, Auswaschen und Untersuchung der schleimigen Klümpchen.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung sind folgende:

Tabelle I. Untersuchungsresultate.

Nach üblichen Methoden	Nach Schiller	Gesamtzahl der Untersuchungen
—	—	46
—	+	3
+	—	4
+	+	47 [1])
		zusammen 100

Von einer genauen Zählung der Tuberkelbazillen haben wir abgesehen, da unser Interesse nur den relativen Ergebnissen, ohne Rücksicht

1) In 23 Fällen ergab das Sch.-Verfahren mehr Bazillen als das übliche. In 16 Fällen war die Zahl ungefähr die gleiche, in 8 Fällen war sie bei Sch. geringer.

auf die absolute Zahl der Tuberkelbazillen im Präparat bzw. Gesichtsfeld galt.

1) Nach dem Schillerschen Verfahren haben wir 100 Sputumuntersuchungen vorgenommen, dabei haben wir 51 positive Sputumproben und 49 negative verwendet (darunter verstehen wir die Resultate der üblichen Sputumuntersuchungen). In den positiven Fällen ergab das Schiller-Verfahren meistens eine deutliche Anreicherung der Tuberkelbazillen, jedoch nicht immer, was aus Tab. I Anm., ersichtlich ist. In 16 Fällen haben wir eine Anreicherung überhaupt nicht festzustellen vermocht, in einzelnen Fällen hat die Anwendung des Schiller-Verfahrens sogar schlechtere Resultate ergeben, als die üblichen unmittelbaren Untersuchungen des Sputums, was aber vielleicht auf Rechnung zufälliger Nebenumstände zu setzen ist (geringe Sputummenge, ungünstige Schleimklümpchen usw.). Bei negativem Sputum ist es nur in 3 Fällen (6 Proz.) unter Anwendung des Schiller-Verfahrens gelungen, Tuberkelbazillen zu finden. Dabei hat aber in keinem der Fälle der Ausstrich den Charakter einer Kultur getragen, wie es bei Schiller selbst der Fall gewesen ist. In einigen wenigen Fällen war zwar ein Bild gruppenweiser Anhäufung von Tuberkelbazillen zu verzeichnen. Doch ein Vergleich mit Präparaten, die aus nicht bearbeitetem Sputum hergestellt waren, zeigte auch hier das gleiche Bild von Tuberkelbazillennestern, wenn auch in kleineren Gruppen.

Des weiteren waren wir nicht in der Lage eine deutlich ausgeprägte Vermehrung der Tuberkelbazillen zu konstatieren, trotzdem die Präparate bei 37 bis zu 20 und selbst 38 Tage im Thermostat verblieben. Ebensowenig konnten wir eine Vermehrung der säurefesten Saprophyten feststellen. In denjenigen Fällen, wo in den Ausstrichen morphologisch den Tuberkelbazillen ähnliche säurefeste Bazillen anzutreffen waren, haben wir sie durch eine Bearbeitung des Ausstrichs mit Spiritus abgesondert. Dabei haben wir dem Auftreten der säurefesten Bazillen in einiger Entfernung von den Leukozyten und der Tuberkelbazillen in der Nähe dieser letzteren keine besondere Bedeutung beigemessen, da wir darin, im Gegensatz zu Schiller, nichts Charakteristisches zu erblicken vermochten.

Unser allgemeiner Eindruck läßt sich dahin zusammenfassen, daß in dem nach Schiller glyzerinisierten Sputum die Tuberkelbazillen sowie die Zellen ziemlich gut erhalten bleiben. Dank dem mehrfachen Zentrifugieren sinken die spezifisch schwereren Sputumteilchen und ziehen die bakterielle Flora mit, darunter auch die Tuberkelbazillen, die sich somit konzentrieren und es zu merklicher Anhäufung bringen. Dazu trägt auch das langdauernde Stehen im Thermostat bei, wo die schleimigen Teilchen zugleich mit den Zellen sich ablagern. Es ist leicht begreiflich, daß in dem Maße der Ablagerung der festen Teilchen, auch die Chancen für die Auffindung der Tuberkelbazillen in dem Bodensatz im allgemeinen zunehmen. Doch beweist dies nicht die Vermehrung, die Anreicherung der Tuberkelbazillen im Sputum, wie Schiller meint, sondern es zeigt nur, daß die Tuberkelbazillen dem Gesetz der Schwerkraft im gleichen Maße unterworfen sind, wie auch andere geformte Bestandteile des Sputums und sich daher gleichzeitig mit ihnen als Bodensatz ablagern.

Wir waren bestrebt unsere Auffassung einerseits durch Vergleich mit den Ergebnissen der Bezançon-Methode zu bestätigen, anderer-

seits aber durch Vergleich mit den Untersuchungsresultaten jenes Teils des Sputums, dessen Tuberkelbazillen durch Erhitzung bereits abgetötet waren. Beim Bezançon-Verfahren geht in noch höherem Maße als beim Schiller-Verfahren eine Verdünnung und Differenzierung des Sputums vor sich. Auch hier dank dem dauernden Stehen im Thermostat, sinken die festen Teilchen und es entsteht eine solche Konzentration der Tuberkelbazillen im Bodensatz, daß diese letzteren nicht selten auch ohne Zentrifugierung mikroskopisch sichtbar sind. Als Mittel zur Anhäufung hat uns dieses Verfahren auch vor Anwendung der Schiller-Methode ziemlich günstige Resultate geliefert: bei positivem Sputum stieg zweifellos die Zahl der Bazillen im Bodensatz. Manchmal fanden wir Tuberkelbazillen nach Bezançon dort, wo wir bei anfänglicher Anwendung der üblichen Untersuchungsmethoden keine festzusetllen vermocht haben. Im weiteren Verlauf unserer Arbeiten begannen wir die Bezançon-Methode nicht nur mit den üblichen Methoden der Sputumuntersuchung sondern auch mit den Schiller-Methoden zu vergleichen.

Tabelle II. Untersuchungsergebnisse.

Nach üblichen Methoden	Nach Besançon	Zahl der Untersuchungen
—	—	116
—	+	8
+	—	3
+	+	51[1])
		zusammen 178

Tabelle III. Untersuchungsresultate.

Nach Besançon	Nach Schiller	Zahl der Untersuchungen
—	—	33
—	+	1
+	—	1
+	+	15[2])
		zusammen 50

Die in Tab. II und III wiedergegebene Zusammenfassung der Ergebnisse unserer Arbeit zeigt, daß die Bearbeitung des Sputums nach dem Verfahren von Bezançon und seinen Mitarbeitern Mathieu und Philibert regelmäßig zur Anhäufung von Tuberkelbazillen führt und in dieser Beziehung das Verfahren Schillers bedeutend übertrifft. Aus den Tabellen ist ferner zu ersehen, daß es Fälle gegeben hat, wo Tuberkelbazillen nur durch Bezançon, andere, wo sie nur nach Schiller festgestellt wurden. Es ist aber auch vorgekommen, daß im Sputum mit einzelnen Tuberkelbazillen im ursprünglichen Präparat die Untersuchung sowohl nach Bezançon als nach Schiller zu keiner

1) Nach Bezançon war die Zahl der Tuberkelbazillen in den Präparaten größer, als bei der Anwendung der üblichen Methoden.

2) In den Fällen mit positiven Ergebnissen hat das Schiller-Verfahren nur in einem Fall eine größere Anhäufung von Bazillen ergeben, als Bezançon; in 7 Fällen war die Menge ungefähr die gleiche, in weiteren 7 Fällen war die Anhäufung bei Bezançon merklich größer.

Anhäufung von Bazillen geführt hat. Bei zahlreichen Sputumanalysen sind solche Fälle stets möglich, was auch ein jeder Untersucher weiß, der irgendeine Anreicherungsmethode anwendet und zu deren Kontrolle positives Sputum mit geringem Bazillengehalt benutzt. Doch würde eine solche Erscheinung wohl kaum stattfinden, wenn die Tuberkelbazillen sich im Sputum nicht nur konzentrieren, ansammeln sondern auch vermehren würden.

Weiter: eine Vermehrung der Tuberkelbazillen müßte zu ihrem numerischen Ueberwiegen führen, im Vergleich mit einem Verfahren, bei dessen Anwendung sie sich nur konzentrieren, ohne sich zu vermehren.

In Wirklichkeit haben wir aber das Gegenteil gesehen, oft hat uns die Konzentration nach Bezançon bessere Resultate geliefert als die „Vermehrung" nach Schiller.

Davon, daß die Tuberkelbazillen sich nach Schiller nicht vermehren, jedenfalls nicht in sichtbarem Maße, haben wir uns vermittels der 3. Serie unserer Experimente überzeugt, als wir das nach Schiller bearbeitete positive Sputum mit demjenigen Teil des Sputums verglichen, in dem die Tuberkelbazillen durch Erhitzen bereits abgetötet waren. Bei diesen Experimenten mit 23 Sputums waren wir ebenfalls nicht in der Lage eine Vermehrung an Bazillen in dem lebendige Tuberkelbazillen enthaltenden Sputumteil zu konstatieren. Wir verweisen an dieser Stelle auch auf die Tatsache, daß das lange Stehen im Thermostat bei 37° (3 Wochen und mehr) fast zu gleichen Resultaten geführt hat, wie sie von den Untersuchungen am 2. oder 3. Tage an den Tag gefördert wurden.

Zu diesem Schluß kommen wir auf Grund der Untersuchungsresultate von Sputum die nach verschiedener Dauer (13—20 Tage) des Aufenthalts im Thermostat vorgenommen wurden.

Außerdem ist zu beachten, daß das Schiller-Verfahren, welches vor dem Bezançon-Verfahren keine inhaltlichen Vorzüge besitzt, auch in technischer Beziehung hinter ihm zurücksteht. Trotz seiner, auf den ersten Blick scheinbar einleuchtenden Einfachheit, ist das Schiller-Verfahren im höchsten Grade unpraktisch, mühevoll und zeitraubend, was sich bei einer Massenbearbeitung von Analysen besonders fühlbar macht. Selbst mehrfaches Auswaschen des Bodensatzes befreit ihn nicht vollständig von Glyzerin, er ist schlüpfrig, haftet nicht am Objektträger und läßt sich schlecht fixieren. Schiller gibt selbst zu, daß beim Färben und Entfärben besondere Vorsicht geboten ist.

Zum Schluß müssen wir uns aber einer Unterlassung schuldig bekennen, die wieder wettzumachen, wir gegenwärtig bestrebt sind: wir hätten gleichzeitig auch der Entwicklungsfähigkeit der Tuberkelbazillen in solchem Nährboden nachforschen sollen, welche den gleichen Prozentzusatz (37,5 Proz.) Glyzerin, wie bei Schiller, aufweist. Doch hat diese Frage selbständiges Interesse, ihre Lösung in der einen oder anderen Richtung kann unserer Schlußfolgerung über die praktische Bedeutung des Schiller-Verfahrens keinen Abbruch tun. Wir haben daher beschlossen, unsere Ergebnisse mitzuteilen, ohne die Resultate des Anbaues reiner tuberkulöser Kulturen oder tuberkulösem Sputums auf Nährboden mit hohem Glyzeringehalt abzuwarten.

Unser Endergebnis ist somit folgendes:

1) Die Bearbeitung des Sputums nach Schiller führt zu keiner Vermehrung der Tuberkelbazillen, jedenfalls nicht in deutlich sicht-

barem Maße, sondern nur zu ihrer Anhäufung im Sinne einfacher Konzentration. — 2) Als Anhäufungsmethode steht Schillers Verfahren hinter dem von Bezançon zurück, sowohl in bezug auf die Ergebnisse, als auch in technischer Beziehung. — 3) Die Technik der Erzielung bakterioskopischer Präparate nach Schiller ist unbequem, zeitraubend und besonders bei Massenvornahme von Analysen praktisch undurchführbar. — 4) Die Entwicklungsfähigkeit der Tuberkelbazillen auf einem Nährboden von 37,5 Proz. Glyzerin (Volumen-Perzent) muß auf experimentellem Wege nachgeprüft werden.

Nachdruck verboten.

Vergleichendes Studium der Kultivierungsmethoden der Spirochaeta Obermeieri.

[Aus dem Mikrobiologischen Institut d. Tat. Volkskommissariates f. Gesundheitswesen und Bakteriologischen Institut der Universität in Kasan (Dir.: Prof. W. M. Aristowsky).]

Von Assistenten Dr. **R. Hoeltzer** und Dr. **T. Zabolotzkaja.**

Ende des Jahres 1924 wurde von Prof. Aristowsky und Dr. Hoeltzer die 3. Modifikation des Kulturverfahrens der Spiroch. Obermeieri nach Aristowsky vorgeschlagen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925).

Diese Modifikation wurde an einem Laboratoriumsstamm ausgeführt, der aus dem Blute eines kranken Menschen gezüchtet und auf den Nährböden Nr. 1 und 2 — verdünntes Pferdeserum mit einem Stückchen gekochten Hühnereiweiß oder Blutgerinnsel (2. Modifikation) — unterhalten worden war. Weiter aber wurde dieser Stamm auf dem neuen Nährboden aus frischem Pferdeserum mit einem Stückchen sterilisierten Rinder- oder Kaninchengehirns unterhalten und hat zurzeit 350 Generationen durchgemacht, von denen 275 Generationen auf den neuen Nährboden kommen.

Da in dieser Zeit in Kasan Fälle von Rückfallfieber nicht vorkamen, konnte dieser Nährboden zur Züchtung der Spiroch. Obermeieri unmittelbar aus dem Blute des kranken Menschen nicht geprüft werden, so daß diese Frage bis auf die letzte Zeit unentschieden blieb.

Vom Oktober 1925 an traten in Kasan wieder Fälle von Erkrankungen an Rückfallfieber auf, so daß mit demselben (von Hoeltzer) Versuche angestellt werden konnten, um Kulturen der Spiroch. Obermeieri unmittelbar aus dem Blute der Kranken auf den Aristowsky-Hoeltzer Nährboden zu erhalten.

Bei der Anstellung dieser Versuche war mit einem Umstande zu rechnen, auf welchen schon früher (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925) hingewiesen worden war, und zwar, daß nicht ein jedes Pferd im gleichen Maße geeignetes Serum für die Kultivierung der Spiroch. Obermeieri gibt. In den unten erwähnten Beobachtungen war diese Tatsache besonders auffällig und bei ungenügender Be-

rechnung derselben hätten wir gewiß Erfolge bekommen, welche mit unseren jetzigen durchaus nicht übereinstimmten. In unseren Versuchen benutzten wir zur Gewinnung des Pferdeserums abwechselnd 2 Füllen: B $3^1/_2$ Jahr alt und W $2^1/_2$ Jahr alt. Auf dem Serum beider Füllen wuchs unser Laboratoriumsstamm gleich gut. — Jedenfalls zeigten sich beim Erhalten des Stammes in vitro schon während 2 Jahren keine Tatsachen, welche für einen Unterschied in der Brauchbarkeit des Serums des einen oder des anderen Füllens sprachen.

Bei unseren Züchtungsversuchen der Spirochäten aus dem Blute von Rekurrenskranken erwies sich jedoch, daß die Anwendung des einen oder des anderen Serums stark auf den Erfolg wirkte, und zwar gab das Serum des Füllens W. bei allen Beobachtungen sehr gute Erfolge; die Impfungen des spirochätenhaltigen Blutes vom kranken Menschen auf den aus dem Serum dieses Füllens zubereiteten Nährboden führten in der Regel zur Entwicklung reicher Kulturen, wie wir sie bei der Kultivierung unseres Laboratoriumstammes zu erhalten gewohnt sind. Die Erfolge der Züchtung der Spirochäten aus dem Blute des Kranken bei Anwendung eines Nährbodens aus dem Serum vom Füllen B unterscheiden sich sehr stark von den eben bezeichneten, denn wir konnten nur eine kleine Anzahl von Stämmen aus dem Blute der Rekurrenskranken auf dem Nährboden aus diesem Serum züchten.

Es gelang uns, Blut von 22 Kranken zu bekommen, von denen auf Nährböden mit dem Serum vom Füllen B Impfungen des Blutes von 17 Kranken gemacht wurden, auf dem Nährboden mit Serum vom Füllen W aber von 15 Kranken.

Im größten Teile der Fälle wurde das von ein und demselben Kranken gleichzeitig entnommene Blut parallel auf die Nährböden mit dem einen und dem andern Serum beimpft. In diesen Fällen wurde das Wachstum der Spirochäten auf dem Serum des Füllen W beobachtet. Es liegt sicher die Ursache des Mißlingens der Züchtung auf den Nährboden mit dem Serum B nicht in den besonderen Eigenschaften des Züchtungsmaterials, sondern in dem Serum des Füllen B selbst. Unsere weiteren Versuche zeigten, daß einige der Stämme, die wir aus dem Blute auf Nährboden mit diesem Serum nicht züchten konnten und welche auf dem Serum des Füllens W gewonnen waren, nach dem sie nur einige Generationen auf dem letzten Nährboden durchgemacht, auch gut auf dem Nährboden mit dem Serum B wuchsen.

Aus Impfungen des Blutes von 15 Kranken auf den Nährboden mit Serum des Füllens W hatten wir Mißerfolg nur in 1 Falle, wo keine Kultur erhalten wurde. Dieser 1 Fall des Mißerfolges steht unserer Meinung nach mit dem Umstande in Verbindung, daß das Blut zur Impfung von einem Kranken genommen war, nachdem ihm Salvarsan eingeführt worden war. Wenn man diesen außerordentlichen Fall ausschließt, hatten die Blutimpfungen von kranken Menschen auf dem Nährboden mit dem Serum W alle 100 Proz. günstige Erfolge. Der Moment der Spirochätenentwicklung in dem Menschenorganismus, in welchem man das Blut zu der Beimpfung nimmt, ist hier ohne Bedeutung. Impfungen des 3 Tage kühl aufbewahrten Blutes, ergaben bei Anwesenheit beweglicher Spirochäten sogar Spirochätenkultur. Die Zubereitung des Nährbodens selbst macht keine Schwierigkeiten und ist sehr einfach.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen führten wir vergleichende Beobachtungen über die Brauchbarkeit anderer zur Kultivierung der Sp.

Obermeieri vorgeschlagener Methoden durch, und zwar die von Ungermann, Illert, Kligler und Robertson. Selbstverständlich folgten wir bei diesen Kultivierungsversuchen streng den Angaben in der Literatur der Frage der Kultivierung der Sp. Obermeieri auf den entsprechenden Nährböden und besonders den von M. Zuelzer (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96).

Was die Methode von Kligler-Robertson anbelangt, so haben die Versuche gezeigt, daß dieser Nährboden zur Unterhaltung unseres Laboratoriumsstammes selbst in einer kleinen Zahl von Generationen ungeeignet ist.

Die vergleichenden Erfolge der Züchtung nach den Methoden von Aristowsky-Hoeltzer, Ungermann und Illert zeigt folgende Tabelle:

Tabelle I.

Nr. der Kranken	Zeit der Blutentnahme	Erfolge der Impfungen auf Nährböden von			
		Aristowsky-Hoeltzer	Ungermann	Illert	
A	I Anf. 2 Tag	—	0	+	+ = Impfung, Kultur erhalten.
B	I „ 3 „	—	0	—	
C	I „ 3 „	—	+	—	0 = Impfung, Kultur nicht erhalten.
D	I „ 6 „	—	0	—	
E	I „ 4 „	—	0	—	— keine Impfung.
F	II „ 2 „	—	+	+	
II	I „ 5 „	+	—	—	
III	I „ 6 „	+	—	—	
VI	I „ 4 „	—	—	+	
VIII	I „ 6 „	+	—	—	
IX	I „ 5 „	—	0	+	
X	I „ 4 „	+	0	+	
XI	I „ 4 „	—	—	+	
XII[1])	I „ 5 „	0	—	0	[1]) Vor der Blutentnahme zur Impfung war Salvarsan eingeführt.
XIII	I „ 4 „	—	—	+	
XIV	I „ 5 „	+	+	+	
XV	I „ 3 „	+	+	+	
XVI	I „ 2 „	+	+	+	
XVII	I „ 6 „	+	+	+	
XVIII[2])	I „ 4 „	+	+	0	[2]) Vor der Blutentnahme zur Impfung war Salvarsan eingeführt. Die Wirkung blieb aus.
XIX	II „ 3 „	+	+	+	
XX	I „ 3 „	+	+	+	
XXI	I „ 6 „	+	0	+	
XXII	I „ 3 „	+	0	+	
XXIII	I „ 2 „	+	+	+	

Man kann also aus diesen vergleichenden Züchtungsversuchen der Spirochäte Obermeieri unmittelbar aus dem Blute des kranken Menschen ersehen, daß schlechtere Erfolge mit dem Ungermannschen Nährboden erzielt wurden. Bei dem Nährboden von Illert[1]) sind die Erfolge fast dieselben wie bei dem Nährboden von Aristowsky-Hoeltzer, denn 2 mißlungene Fälle, bei welchen uns die Kultur

1) Inaktiviertes Kaninchenserum, mit physiol. NaCl-Lösung 4:1 verdünnt, mit einem Stückchen gekochten Hühnereiweiß, war schon 1921 von Aristowsky vorgeschlagen, nur in etwas anderer Verdünnung und auch mit einem Stückchen gekochten Hühnereiweiß (Kasan. Med. Journ. 1921. Nr. 1—2).

auf dem Nährboden von Illert nicht gelungen war, betreffen Kranke, welchen schon Salvarsan eingeführt war.

In der Frage über die Kultivierung der Spiroch. Obermeieri bei der Wertbestimmung der einen oder der anderen Methode erscheint nicht minder wichtig, außer der Brauchbarkeit der Methode für das Erhalten der 1. Kultur aus dem Blute des kranken Menschen, auch ein anderer Moment, und zwar die Brauchbarkeit des Nährbodens für die Fortzüchtung der Spirochäten in vitro und das Erhalten der folgenden Generationen zu berücksichtigen. Wenn auf Grund der soeben angeführten Beobachtungen, der Nährboden aus dem inaktivierten Kaninchenserum mit einem Stückchen gekochten Hühnereiweiß beinahe von gleichem Wert mit dem neuen Nährböden — frisches Pferdeserum mit einem Gehirnstückchen — erscheint, so können wir uns beim Studium der Frage über den vergleichenden Wert dieser Nährböden und auch des Ungermannschen Nährbodens zur Erhaltung der nachfolgenden Generationen der schon aus dem Blute ausgeschiedenen Spirochäten überzeugen, daß diese Nährböden sich scharf voneinander unterscheiden.

Was das weitere Erhalten der ausgeschiedenen Kultur in vitro anbelangt, geben weder die Nährböden von Ungermann noch der Nährboden von Illert irgendwelche befriedigenden Erfolge. Fast alle von uns ausgeschiedenen Kulturen gingen ein, nachdem sie in vitro nur einige Generationen auf diesen Nährböden durchgemacht hatten. Eine Ausnahme macht nur der Stamm XV, den wir auf den Ungermannschen Nährböden in 10 Generationen durchführen konnten; eine 11. Generation wurde nicht erhalten.

Unsere Beobachtungen bezüglich Ungermannschen Nährbodens werden auch durch die Untersuchungen von Sarafoff (Centralbl. f. Allg. Pathol. u. Pathol. Anat. Bd. 36. 1925. Nr. 12), wobei sich der Autor scheinbar nur mit den Nährböden der 2. Modifikation der Kulturmethode der Spiroch. Obermeieri nach Aristowsky bedient hat. Dennoch kam S. zu dem Schlusse, daß dieser Nährboden geeigneter als der Nährboden von Ungermann sei.

Im Gegensatz zu den Erfolgen, die wir bei Versuchen, die Stämme der Spiroch. Obermeieri in vitro auf den Nährboden von Ungermann und Illert zu erhalten, bekommen haben, hatte der Nährboden von Aristowsky-Hoeltzer die besten Erfolge. Von allen von uns aus dem Blute kranker Menschen ausgeschiedenen und im weiteren auf diesem Nährboden gezüchteten Stämmen ging keiner verloren, wobei einige von diesen, je nach dem Alter, zurzeit schon gegen 100 Generationen durchgemacht haben.

Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß die Nährböden von Ungermann und Illert zur Züchtung der Spiroch. Obermeieri wenig brauchbar sind, entstand die Frage, warum diese Nährböden, besonders von Ungermann, eine so große Verbreitung in Deutschland haben? In der Voraussetzung, daß der Grund des Mißlingens bei uns in dem Ausgangsmaterial liegt, weil wir für die Impfungen das Blut kranker Menschen und nicht der infizierten Maus nahmen, wie es von den genannten Autoren geschieht, versuchten wir die Spirochätenkultur mittels Impfungen des Mäuseblutes zu erhalten. Diese Impfungen und die des Blutes weißer Ratten, die mit der Spiroch. Obermeieri infiziert waren (Stamm Kolle), gaben auf den Nährböden aus frischem Pferdeserum mit einem sterilisierten Gehirnstückchen und auch auf die

Nährböden von Ungermann und Illert keine positiven Erfolge. Das Blut der Maus oder der weißen Ratte wurde an verschiedenen Tagen der Erkrankungen (von 2—7 Tagen) entnommen, d. h. in Momenten, wo verschiedene Mengen der Teilungsformen der Spirochäten vorhanden waren. In allen Fällen entwickelten sich die Spirochäten entweder schwach oder es trat sehr bald Rückbildung ein. Bei den Ueberimpfungen wurden die folgenden Generationen nicht erhalten.

Den Grund des Auseinandergehens der Erfolge unserer letzten Versuche auf den Nährböden von Ungermann und Illert können wir bis jetzt nicht erklären.

Nachdruck verboten.

Die Kultur des testikulären Pockengewebes.

[Aus dem Mikrobiologischen Institut der Wissenschaftlichen Staatsinstitute „Gins". (Dir.: Prof. W. Barikin).]

Von **S. Minerwin** und **A. Schmerling**, Moskau.

Die Methode der Gewebekulturen wurde 1913 von Steinhardt, Israeli und Lambert zum 1. Mal beim Studium des Pockenvirus angewandt.

Diese Verfasser legten Stückchen der Hornhaut von Kaninchen und Meerschweinchen für kurze Zeit in dialysierte, verdünnte Glyzerinlymphe und kultivierten sie sodann in Blutplasma bei 37 °.

Nach verschiedenen Zeiträumen wurden die Stückchen einerseits mikroskopisch untersucht und andererseits Kaninchen abgeimpft. Diese Versuche zeigten, daß das Virus in den zu kultivierenden Stückchen 30 Tage lang ungeschädigt bleibt, ferner daß die Inokulation bei Tieren noch mit Kulturen der 3. Passage gelingt, und daß beim Kultivieren eine bedeutende Vergrösserung des Virus erfolgt. Mikroskopisch konnten keine Vakzinkörper in den zu kultivierenden Stückchen entdeckt werden. Wenn für die Gewebekulturen Hornhaut genommen wurde, welche vorher durch Erhitzen oder durch eine hypotonische Salzlösung abgetötet war, so konnte keine Vermehrung des Virus beobachtet werden. In späteren Mitteilungen bestätigten die Autoren die Ergebnisse ihres Anfangsversuches und weisen noch darauf hin, daß das Kultivieren von Stückchen der Nieren und des Herzens unter den gleichen Bedingungen nicht zur Vermehrung des Virus führt und daß dasselbe im Gewebe der Leber bei der Kultivierung schnell zugrunde geht.

Wenn Plasma und Hornhaut, statt von normalen von immunen Tieren genommen werden, wurde das Virus bald inaktiv, obgleich Wachsen des Epithelgewebes beobachtet wurde. Harde Edna weist (1915) darauf hin, daß bei derselben Methodik des Versuches eine Vermehrung des Virus im Hodengewebe erfolgt. Gins wiederholt 1916 die Versuche, das Pockengewebe zu kultivieren, mit einer etwas veränderten Methodik. Da die Temperatur von 37 ° bei den vom Verf. früher angestellten Beobachtungen sich als schädlich für das Pockenvirus erwiesen hatte, bediente sich Gins bei seinen Versuchen zur Kultur des Pockengewebes der niedrigeren Temperatur von 30—32 ° und benutzte als Material zur Aussaat Haut und Hornhaut von infizierten Kaninchen.

Verf. fand, daß das Virus sich außerhalb des Gewebes im Plasma, in welchem die Kultivierung des Pockengewebes vor sich geht, (die Hornhaut) nicht entwickelt, daß es sich jedoch in einzelnen Fällen dem Plasma einverleibt. Die Frage über die Vermehrung des Virus entscheidet der Verf. hier nicht. In den neuentstandenen Zellen der Hornhaut findet er typische Vakzinkörper, und Versuche mit Impfungen der kultivierten Hornhaut brachten ihn zu dem Schlusse, daß das Virus in 7 Tagen seine Virulenz vollständig beibehält, und daß noch am 11. Tage eine Hautinfektion möglich

ist. Beim Kultivieren eines Hautstückchens von einem vakzinierten Kaninchen erhielt er negative Resultate.

Gins weist darauf hin, daß das Kultivieren der Hornhaut die Entwicklung einer großen Menge von Mikroben zur Folge hatte. Zur Sterilisation des Gewebes wusch er daher die Hornhaut vorher mit einem Strahl steriler Ringerscher Lösung in einer Menge bis zu $^1/_4$ Liter.

Hach benutzte 1924 bei der Gewebekultur in seiner Arbeit mit dem Vakzinvirus Milz und Hodengewebe von Kaninchen, welche 5—6 Tage vor der Aussaat in Hoden durch Passagevirus infiziert waren. Durch seine Versuche stellte er fest, daß in den von ihm untersuchten 5—12tägigen Kulturen das Virus nicht geschwächt wird, daß die kultivierte Milz und die Hoden, welche Kaninchen eingeimpft wurden, keinen Unterschied in der Stärke der Infektion bewirken und daß das Virus während eines bestimmten Zeitraumes sich ebenso gut in Kulturen mit gutem Wachstum, wie in solchen ohne eine Spur desselben erhält.

Wir arbeiteten mit testikulärem Pockenvirus mit Hodengewebe, wobei man eine den Grundbedingungen der Methode Carrels, die Sterilität des Versuches, verhältnismäßig leicht erfüllen kann.

Zu unseren Versuchen der Kultivierung des testikulären Pockengewebes benutzten wir möglichst junge Kaninchen mit nicht scharfen Pockenorchitis, während wir zur Infektion der Kaninchen, welche wir zu dem Versuche nach Carrel brauchten, entweder testikuläres Passagevirus oder später Gewebekulturen des Pockenhodens verwandten.

Die Spezifikation der Pockenorchitis der Versuchskaninchen wurde einerseits durch Prüfung auf die Hautimmunität und andererseits durch Vakzination des für den Versuch extirpierten Hodens auf die Haut des Kaninchens festgestellt, während die Sterilität des Hodengewebes durch Aussaat auf die gewohnten Nährböden geprüft wurden. Kultiviert wurde in oxalatem Plasma mit nachfolgendem Zusatz von Ringerscher Lösung und mit der von Krontowsky und Polew vorgeschlagenen Modifikation. Im ganzen wurden von uns 72, durch Gewebekulturen infizierte Kaninchen verwendet, welche nach: Kultur von 3 Tagen 2 Infektionen, von 4 Tagen 1 Infektion, von 5 Tagen 7 Infektionen, von 6 Tagen 1 Infektion, von 7 Tagen 7 Infektionen, von 8 Tagen 1 Infektion, von 9 Tagen 13 Infektionen, von 12 Tagen 10 Infektionen, von 14 Tagen 2 Infektionen, von 16 Tagen 5 Infektionen, von 17 Tagen 3 Infektionen, von 18 Tagen 10 Infektionen, von 27 Tagen 7 Infektionen, von 36 Tagen 1 Infektion und von unbestimmter Dauer 2 Infektionen zeigten.

Diese Versuche wurden unter sehr verschiedenen Bedingungen gemacht, weshalb wir kein summarisches Resultat derselben angeben können. Besonderes Interesse gewinnen sie nur durch die Beleuchtung der Bedingungen der Ausführungsweise des Versuches.

Da schon die ersten Versuche, die Kaninchen mit 3 und 5tägigen Kulturen zu infizieren, mit Bestimmtheit darauf hinweisen, daß das Virus sich in dieser Zeit gut erhält und virulent bleibt, gingen wir einerseits, und zur Lösung der Frage über die Dauer der Erhaltung des Virus bei der Gewebekultivierung über, und erörterten andererseits die Frage über die Möglichkeit, das Virus zu vermehren, und die Abhängigkeit dieser Erscheinung gerade von der Kultivierung der Gewebe. Die nach jener Richtung hin ausgeführten Versuche gaben folgende Resultate (Passagelose Kulturen):

Zeitdauer der Kultivierung	Anzahl der Versuche	Resultate der Infektion		Bewahren des Virus in der Ringerschen Lösung		
		positiv	negativ	Anzahl der Versuche	Resultate	
					positiv	negativ
3 Tage	2	2	—	2	2	—
4 „	1	1	—	1	1	—
5 „	5	5	—	5	5	—
6 „	1	—	1	1	1	—
7 „	7	6	1	5	3	2
8 „	1	—	1	1	—	1
9 „	5	5	—	3	—	3
12 „	5	5	—	2	—	2
14 „	1	1	—	1	—	1
16 „	2	2	—	2	—	2
17 „	3	3	—	1	—	1
18 „	4	2	2	1	—	1
27 „	3	—	3	1	—	1
36 „	1	—	1	—	—	—

Diese Tabelle ergibt, daß fast regelmäßig die Pockengewebe kulturen in 17 Tagen eine spezifische Orchitis hervorrufen (das Vorhandensein von Virus in Gewebekulturen wurde durch Einimpfen derselben in Kaninchenhoden mit nachfolgender Untersuchung auf die spezifische Art der Erkrankung hin festgestellt, und daß ein länger dauerndes Kultivieren ein falsches Resultat gibt und auch keinerlei Reaktion bei Kaninchen hervorruft. Zur Erläuterung der Frage über die Abhängigkeit des Virus von der Lebensfähigkeit des Gewebes machten wir Versuche mit zerriebenen und zerkleinerten Stückchen Pockengewebes, welche danach in das Plasma gelegt wurden. Bei dieser Art des Versuches ließ sich kein Wachstum des Gewebes beobachten, während das Virus seine Virulenz ebenso schnell verlor, wie bei seiner Aufbewahrung in Ringerscher Lösung. Diese Ergebnisse stimmen vollkommen mit den analogen Beobachtungen vom schnellen Absterben des Virus beim Versenken desselben in das Plasma der abgetöteten Hornhaut in den oben erwähnten Versuchen der amerikanischen Forscher überein. Eine direkte Antwort auf die von uns behandelte Frage könnte man durch die Kultur des Gewebes in dem für das Hodengewebe des Kaninchens zytotoxischen Plasma erhalten. Doch sehen wir keim Kultivieren des Hodengewebes im Plasma des Kaninchens mit einem Zusatz von Serum eines Meerschweinchens, welches intraperitoneal durch das Hodengewebe eines Kaninchens immunisiert war, das gleiche Wachstum, wie beim Kultivieren auf gewöhnliche Weise. Daher sind auch die Resultate der Infektion von Kaninchen mit solchen Kulturen im Vergleich zu den oben erwähnten, beim Kultivieren des Gewebes im oxalaten Plasma erhaltenen, dieselben.

Es war nun von Interesse, den Einfluß der immunen und viruliziden Eigenschaften, welche im Blute der durch Vakzine immunisierten Tiere vorhanden sind, auf das Schicksal des Virus festzustellen. Das Vorhandensein dieser Eigenschaften wird bekanntlich durch die Arbeiten zahlreicher Forscher bestätigt (Béclère, Menard und Chambon, Paschen, Tanaco, Tomarkin und Suárez, Freyer, Casagrandi, Belin, Süpfle, Sato, Gastinel, Gins u. a.). Die von uns wiederholt gemachten Versuche, das testikuläre Pockengewebe

im für Pockenvirus immunen Plasma zu kultivieren, haben gezeigt, daß das Virus schon nach 5 Tagen in den von uns kultivierten Stückchen, trotz des normalen Wuchses des Gewebes, nicht mehr gefunden werden konnte, und daß das Virus folglich unter diesen Bedingungen viel schneller zugrunde geht, als beim Aufbewahren der Gewebestückchen in der Ringerschen Lösung. Es muß hierbei bemerkt werden, daß bei diesen Versuchen zum Infizieren vielemal größere Mengen des von uns kultivierten Gewebes genommen wurden, als zu den Kontrollversuchen mit Einspritzung der unter gewöhnlichen Bedingungen kultivierten Stückchen. Ueber das frühe Zugrundegehen des Virus beim Kultivieren des Pockengewebes im immunen Plasma haben wir keine Beobachtungen angestellt.

Wenn wir von der Kultur des Gewebes sprechen, so ist im Auge zu behalten, daß dieselbe aus 2 Teilen besteht: aus dem zu kultivierenden Stückchen und aus dem Plasma, in welchem das Kultivieren des Gewebes vor sich geht.

Indem wir diese beiden Teile der Gewebekultur in die Hoden des Kaninchens einführen, wissen wir nicht, mit welchem derselben das Virus in den Organismus eingeführt wird. Wir versuchten, diese Frage zu lösen, indem wir das von uns kultivierte Stückchen mit einem peripherieartigen Rande des neugebildeten Gewebes von dem Nährplasma abteilten und sie einzeln in die Hoden der Kaninchen einführten. Die Resultate waren folgende:

Infektionsmaterial	Zeit des Kultivierens	Zahl der Versuche	Resultat der Infektion
Kultur ohne Plasma	9 Tage	5	positiv
Plasma ohne Kultur	9 „	5	„

Die erhaltenen Resultate bestätigen, daß sowohl das kultivierte Gewebe selbst, als auch das Nährplasma jedes für sich ein Virus enthält. Dabei darf man jedoch nicht vergessen, daß das Plasma beim Kultivieren immer eine bedeutende Anzahl emigrierter Zellen enthält, von welchen dasselbe zu befreien, es keine Möglichkeit gibt. In dieser Beziehung stimmen unsere Ergebnisse nicht ganz mit denen von Gins überein, welcher beim Kultivieren der Pockenhaut auf Grund seiner Versuche in einzelnen Fällen ein nur kurze Zeit andauerndes Einverleiben des Virus in das Plasma zuläßt. Doch muß man glauben, daß beim Kultivieren der Hornhaut, eines rein epithelialen Gewebes, die sogenannte Emigration der Zellen kaum in bedeutendem Maße stattgefunden hat, daß sie von uns gerade in hohem Grade beim Kultivieren des Hodengewebes beobachtet wurde.

Nachdem wir die Frage über die verschiedene Dauer des Bestehens des Pockenvirus, je nach den verschiedenen Bedingungen, unter denen das Gewebe kultiviert wurde, erläutert hatten, versuchten wir zur Lösung der Frage überzugehen, ob es sich dabei nur um das Erhalten des Virus handelt, oder ob auch von der Vermehrung desselben die Rede sein kann. Wir verglichen die Menge des testikulären Pockengewebes, welche zum Erhalten der spezifischen Orchitis bei den Kaninchen nötig ist, vor und nach dem Kultivieren des Gewebes. Die Resultate dieser Versuche waren folgende:

I. Versuch.

Zahl der vor dem Kultivieren zur Infektion genommenen Stückchen	Resultat der Infektion	Zahl der zur Infektion nach dem Kultivieren im Laufe von 5 Tagen genommenen Stückchen	Resultat der Infektion
6 Stückchen	negativ	6 Stückchen	positiv
4 „	„	4 „	„
2 „	„	2 „	„

II. Versuch.

Zahl der vor dem Kultivieren zur Infektion genommenen Stückchen	Resultat der Infektion	Zahl der nach 5-tägig. Kultivieren zur Infektion genommenen Stückchen	Resultat der Infektion	Zahl der nach 12-tägiger Kultur zur Infektion genommenen Stückchen	Resultat der Infektion
6 Stückchen	positiv	4 Stückchen	positiv	4 Stückchen	positiv
4 „	„	2 „	„	2 „	„
2 „	negativ	1 „	„	1 „	„
1 „	„	$^1/_2$ „	„	$^1/_2$ „	„

Beim 3. Versuche war die minimale Menge des Gewebes vor dem Kultivieren, welche zum Erzeugen der spezifischen Orchitis bei den Kaninchen nötig ist, nicht festgestellt. Wie im 2. Versuche, genügte auch hier nach 5- und nach 12tägigem Kultivieren $^1/_2$ Stückchen des kultivierten Gewebes, um die Pockenorchitis zu erhalten.

Da wir aus unseren Versuchen schlossen, daß die Erhaltung des Pockenvirus mit der Lebensfähigkeit des zu kultivierenden Gewebes zusammenhängt, gingen wir zu Passageversuchen, des nach Carrel kultivierten Gewebes, über. Die Passage selbst wurde in gewöhnlicher Weise durchgeführt. Die neugebildete peripherische Schicht isolierte sich vom Grundgewebe des zu kultivierenden Stückchens, welches auf kurze Zeit in die Ringersche Lösung gelegt und dann in das Plasma versenkt wurde. Wenn wir nach der Menge der emigrierten Zellen und der an einzelnen Stellen hervortretenden Strahlen des neugebildeten Gewebes urteilen, war das Wachstum im passierten Gewebe weniger ausgeprägt, als bei der Anfangsaussaat. Es muß noch bemerkt werden, daß, wenn auch bei der Anfangsaussaat die Stärke der Entzündung des Hodens eine wichtige Rolle beim Wachstum des zu kultivierenden Stückchens spielte (bei scharfen Entzündungen und Blutergüssen waren fast gar keine Anzeichen des Wachstums zu bemerken), dieser Umstand für das Wachstum des Passagegewebes entscheidend war. Und zwar beobachteten wir bei Aussaaten eines sehr bedeutend entzündeten Hoden bei den Passagen des zu kultivierenden Gewebes gar keine Anzeichen von Wachstum. Dieser Umstand bildete augenscheinlich den einzigen Grund dafür, daß das Schicksal des Virus im Passagegewebe dabei auch nicht gleichartig war. Nach zahlreichen Versuchen mit der Passage des testikulären Pockengewebes, bei welchen wir weder das Wachstum des Passagegewebes, noch ein positives Resultat der Infektion der Kaninchen durch die erwähnten Passagen erhielten, gelang es uns, in dieser Richtung einige erfolgreichere Versuche zu erhalten, deren Ergebnisse wir in folgender Tabelle wiedergeben (zum Versuche nahmen wir Kaninchen mit sehr unbedeutenden entzündlichen Veränderungen in den Hoden):

Dauer des Wachstums der Grundkultur	Dauer der 1. Passage	Dauer der 2. Passage	Resultat der Infektion	Gleichzeitige Infektion durch passagenfreie Kultur einer Dauer von	Resultat der Infektion
		I. Versuch. Kulturen von einem Eichen.			
7 Tage	5 Tage	—	negativ	12 Tage	positiv
9 „	8 „	—	„	17 „	„
9 „	8 „	—	positiv	17 „	„
		II. Versuch. Kulturen von einem Eichen.			
9 Tage	7 Tage	—	negativ	16 Tage	positiv
9 „	7 „	—	„	16 „	„
9 „	9 „	—	positiv	18 „	negativ
		III. Versuch. Kulturen von einem Eichen.			
9 Tage	9 Tage	—	positiv	18 Tage	positiv
9 „	9 „	—	„	18 „	„
9 „	9 „	9 Tage	„	27 „	negativ
9 „	9 „	9 „	negativ	27 „	„
9 „	9 „	9 „	„	27 „	„

Aus dieser Tabelle ist zu schließen, daß bei einer Reihe von Versuchen das Passagegewebe einen Umstand bildet, welcher so zu sagen die Erhaltung des Pockenvirus im Gewebe hindert. Wir haben jedoch in einem Falle Ergebnisse entgegengesetzten Charakters erhalten, und zwar die Erhaltung des Virus bei der Passage, während die zur Kontrolle gemachte Infektion eines Kaninchens mit passagefreier Kultur von gleicher Dauer keine Infektion des Kaninchens erzielte. In einem Falle blieb das Virus nach 2 Passagen 27 Tage nach der Anfangsaussaat bei negativem Kontrollresultat der Infektion des Kaninchens erhalten. Wir sind geneigt, diese einigermaßen verschiedenartigen Ergebnisse, welche wir bei der Infektion mit Passagekulturen erhielten, wobei wir mit dem Charakter und dem Grade der letzteren rechneten, mit der ungleichen Lebensfähigkeit der Passagekulturen in Zusammenhang zu bringen.

Zusammenfassung.

1) Das Virus hält sich in dem ohne Passagen zu kultivierenden testikulären Gewebe bis zu 18 Tagen, wonach sein Absterben beginnt. — 2) Die Virulenz des Pockenvirus ist im Laufe des genannten Zeitraumes eng mit der Lebensfähigkeit des zu kultivierenden Gewebes verbunden. — 3) Das Kultivieren in dem gegen das Pockenvirus immunen Plasma führt zu schnellem Absterben des Virus. — 4) Das Virus ist im Laufe der ersten 9 Tage des Kultivierens sowohl in dem zu kultivierenden Stückchen, als auch in dem es nährenden Plasma enthalten (oder in den emigrierenden Zellen?). — 5) Beim Kultivieren des testikulären Pockengewebes stellten wir nicht nur das Bleiben des Virus fest, sondern es geht augenscheinlich, wenigstens in den ersten 12 Tagen, eine Vermehrung des Virus vor sich.

Literatur.

1) Gins, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82. 1916. — 2) Steinhardt, Israeli u. Lambert, zit. nach Gins u. Harde, Edna Harde, Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 18. 1915. — 3) Hach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. — 4) Krontowsky i Połew, Method tkanewich kultur. 1917. — 5) Wassilewski u. Winkler, Ergeb. d. Hyg. u. Bakteriol. Bd. 7. 1925. usw. — 6) Sobernheim, Ebenda.

Nachdruck verboten.

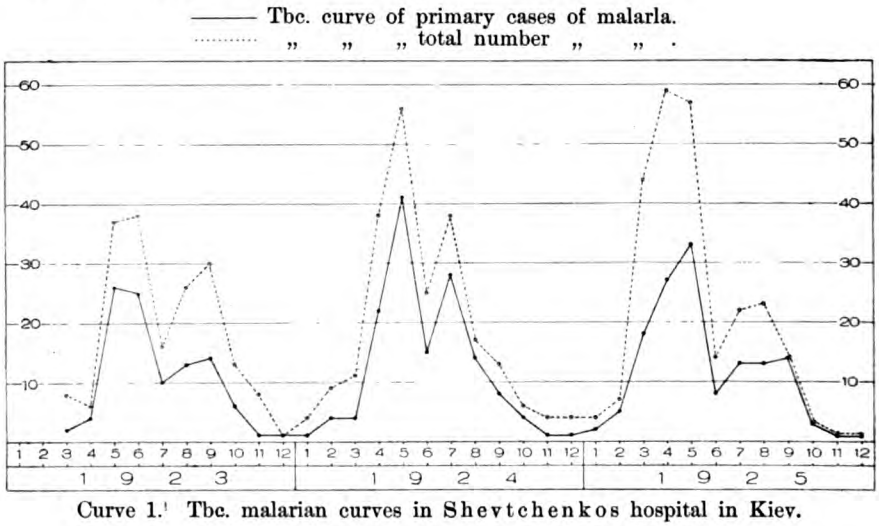
To the analysis of the malarian curve in Kiev[1]).

[From the malarian Department (chief prof. A. Krontovsky) of Bacteriological Institute in Kiev (Ukraine).]

By **S.B. Rybinsky,** Assistent of Institute.

With two curves in the text.

For several consecutive years we have had the opportunity of analysing the curve of primary cases of malaria and of studying the correlation between the spring and autumn outbreaks of epidemy on the territory of Shevtchenko's hospital in Kiev.



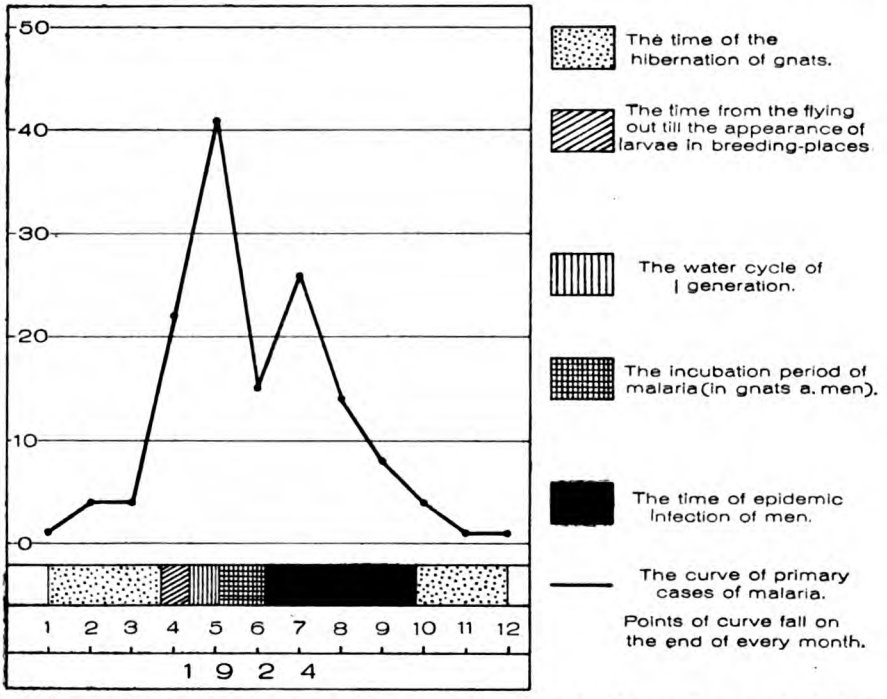
Curve 1. Tbc. malarian curves in Shevtchenkos hospital in Kiev.

The permanent body of dwellers of any age (the staff with their families) in the number of about 1000 persons, afforded the possibility of exactly registrating malaria. For the last three years this place has been under regular epidemiological and entomological observations. As seen in the Table I, each year there have been noticed two outbreaks

1) A report on the malarian congress of north-west Ukraina in Kiev in April of 1926.

of malaria, though on this territory there were exclusively cases of benign malaria tertiana.

The first rise reached its peak in the end of spring, and the second in the end of summer. The entomological observations for these years have shown that the hibernation of Anopheles continues to the end of March or the beginning of April; the first larvae appear in breeding—places in the beginning of May and the flying out of the first brood occurs in the beginning of June. On the whole five generations of Anopheles are bred from spring to autumn. The flying back to hibernal lodge ends in the middle of October. There have been found two species of Anopheles: An. claviger (maculipennis) and



Curve 2. Tbc. curve of primary cases of malaria in 1924 and entomological calendar of Anopheles.

An. bifurcatus; the latter being rarely met, only the former was of epidemiological importance.

If we examine the curve of spring primary cases of malaria in connection with the entomological calendar of Anopheles and the table of mean monthly temperature of air in the same year in Kiev, we must gather that the spring rise of primary cases is to be laid to the charge of autumn infection and not to the infection by gnats of the same year.

Thus in 1924, beginning of May, there were noticed only small larvae of Anopheles, while the spring rise of primary attacks stood on its maximum. The flying out of the first brood of Anopheles, according to our observations in Kiev (Rybinsky) and those of

Vassilieff's in Izume, occured in the beginning of June 1924. Setting out of this date we can conclude that a month passes between the moment of the breed of the first generation of gnats and the beginning of the rise of epidemy. The great quantity of Anopheles in which the malaria plasmodium has achieved the course of sexual development is necessary for an epidemic infection of men. If we suppose that the development of plasmodium in gnats takes a fortnight and the infection of men and the incubation period of malaria take as much time, we must carry the beginning of primary attacks in considerable number to a month after the appearance of the first brood of Anopheles, i. e. the beginning of July. (Table).

Table.

Mean monthly temperature (in degrees C.) according to Ukrainian meteorological bureau (Kiev).

Months	1923	1924	1925	for many years
April	+ 5,8°	+ 5,6°	+ 9,2°	+ 7°
Mai	+ 17,2°	+ 18,2°	+ 17,2°	+ 15°
June	+ 16,6°	+ 21,9°	+ 15,5°	+ 17°
July	+ 18,7°	+ 18,8°	+ 21,5°	+ 20°

The mentioned term will not seem long if we take into consideration that the development of Plasmodium vivax to sporozoites requires about 15 days at the temperature 15—23° C. (Roubaud) plus 10—14 days of incubation period in men till the beginning of primary malaria attacks (Ziemann).

The curve of primary cases gave a sharp fall in June 1924 and 1925 and a less considerable fall in July of 1923. We have no exact data on the flying out of the first generation of Anopheles in 1923, but we may suppose, in connection with a lower mean monthly temperature in spring of 1923 (especially in June) there was a delay of the gnaths' flying out and development of sporozoites in them, comparatively with 1924. The fall of the curve of primary malarian cases in summer months may be explained by the small number of infected gnats in nature and the absence of factors calling forth the spring activity of malaria. Further the number of infected gnats incessantly increasing activated the rise of the curve in autumn as well as the formation of a long incubation period of malaria and its outbreak in the following spring. According to Swellengrebell's data the maximum of gnats infected with malaria are to be found in the vicinity of Amsterdam in the period from September to October. The fall of temperature and the Anopheles' return to hibernation strongly diminishes the number of malaria cases.

Upon examining the curve of the general number of malaria cases —primary and secondary—we tried to solve the question of the intensity of the population's affection in the given malaria place for the years 1923, 1924 and upon the account of materials of 1925 to build a prognosis for the course of primary cases in the spring of 1926.

Every year we had two rises of epidemy in spring and autumn. The similiar curves have been shown by Martini in his article

on malaria in Göteborg. The spring rise of malaria, as we said before, must be attributed to the autumnal infection and the appearance of attacks produced by the infection of gnats bred in the same year, must be carried to the middle of summer.

If we consider the general number of cases in the malarian periods in 1923, i. e. the three months of the rise in autumn 1923 (from August to October) and three months of the spring rise of 1924 (from March to May), as well as the number of malaria cases in 1924 (June—August 1924 and March—May 1925), we shall get the following picture of malarian seasons for 1923 and 1924:

antumn 1923	69 men		autumn 1924	80 men
spring 1924	105 „		spring 1925	160 „
for 1923	174 men		for 1924	240 men

Thus, according to the observations on the terriory of Shevtschuko's hospital the malarian epidemy intensely developed in 1924.

An attentive study of our and Martini's curves leads to the notion of correlation between the previous year outbreak and its recurrence in the following year and show that each violent outbreak in autumn is followed by a similar outbreak next spring. It is especially obvious in the curves of Martini, which present the course of malarian epidemies for several years. Examining the seasonal rises for the period from 1923 to 1925 we notice that the number of primary cases in autumn 1925 was smaller than that in 1924. It gives to suppose that, unless there be any conditions sharply altering the course of epidemy, the number of malaria cases in spring 1926 will be smaller than that of the spring 1925[1]).

Summary.

1) The accurate registration of malaria (benign tertiana) for the last three years among a group of population living in one locality (in Shevtchenko's hospital on the border of Kiev) disclosed that not only the curve of primary cases of malaria was bi-peaked, but also the curve of total number of malaria. The rises are in the end of spring and summer. — 2) The fall of primary cases' curve, which occured in the middle of summer (June-July) might be explained by a small quantity of infected gnats in nature and some other conditions (for inst. absence of factors stimulating the spring activity of malaria). — 3) The study of curve of primary cases respectively to the entomological observations on gnats in the same year clearly demonstrated that the cases of primary infection in the spring rise must be ascribed to the previous year autumnal infection and only the autumnal rise — to the infection of the same year. — 4) In the indicated conditions the primary cases of malaria, which were due to the infection by gnats of

1) Our conjectures turned out to be right in the epidemy of 1926.

the given year appeared about a month after the flying out of the first brood of Anopheles in the same year.

References.

Vasilieff Journ. Prevent. Med. 1925. No. 2. (russ.). — Martini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. S. 101. — Rouboud (zit. Muehlens, Die Plasmodien. Leipzig. 1921. — Rybinsky, Journ. Prevent. Med. 1925. No. 8 (russ.). — Swellengrebel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 75. 1923/24. S. 167. — Ziemann, Menses Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 3. 1924.

Nachdruck verboten.

Die Ursachen der antirabischen Paralysen (experimentelle und klinische Beobachtungen).

[Aus dem Swerdlowsker Bakteriologischen Institut (Dir.: Prof. Dr. Stepanow-Grigorjew).]

II. Mitteilung.

Von Dr. **Otto Herrmann**, Abteilungsleiter.

Einfluß des Wuttoxins auf antirabische Lähmungen.

Babes nimmt an, daß als einzige Ursache der antirabischen Lähmungen das Wuttoxin zu betrachten ist, da die Nervensubstanz der an solchen Schädigungen Verstorbenen nicht virulent sein soll (3 Fälle).

Daß aber die Nervensubstanz der an antirabischen Lähmungen Gestorbenen virulent sein kann, ist aus den früher angegebenen 14 positiven Uebertragungsversuchen mit dem Gehirn derselben zu ersehen.

In Analogie mit anderen Infektionskrankheiten ist es freilich sehr schwer, die Existenz des Wuttoxins abzustreiten, man muß aber sagen, daß der Einfluß desselben auf antirabische Lähmungen nicht als bewiesen zu betrachten ist.

Wenn man experimentell feststellen könnte, daß unter gleichen Bedingungen die Injektionen von avirulenter Emulsion aus Gehirn eines an Wut zugrunde gegangenen Tieres Lähmungen auslösen, Emulsionen aus normaler gesunder Nervensubstanz dagegen nicht oder wenigstens in einem weit geringerem Maße, so könnte man auch dann schon den Einfluß des Wuttoxins anerkennen. Die bis dahin in dieser Richtung geführten Versuche konnten es aber nicht beweisen (s. folgenden Abschnitt).

Einfluß der normalen Nervensubstanz auf antirabische Lähmungen.

Um die Unschädlichkeit der normalen Nervensubstanz zu beweisen, injizierte Babes täglich während längerer Zeit einem Hunde große Quanten von Hundegehirn und einem anderen von Hammelgehirn (1 Gehirn dem ersten und $^1/_2$ dem zweiten); er konnte bei denselben keine toxischen Erscheinungen beobachten. Zwecks Aufklärung des

immunisatorischen Vermögens der normalen Nervensubstanz hat er 1892 und 1898 im ganzen 15 Hunde ungefähr 10 Tage hintereinander zu 5 g einer Emulsion vom Hammelgehirn injiziert und dabei keine Schädigungen gesehen. Babes hat noch verschiedenen Neurasthenikern und Epileptikern je 5 g einer Hammelemulsion einverleibt (täglich oder in Intervallen von etlichen Tagen), ohne bei ihnen paralytische Erscheinungen beobachten zu können. Da aber antirabische Lähmungen in der Regel auch nach Injektionen mit virulentem Gehirn sehr selten sind, so können folglich diese geringen Zahlen nicht als genügend betrachtet werden, um die Unschädlichkeit der normalen Nervensubstanz zu beweisen.

Koritschoner und Schweinburg versuchten durch klinische und experimentelle Beobachtungen diese Frage zu lösen. Das klinische Material umfaßt 2024 Untersuchungen der Patienten. Diese Untersuchungen, auf deren Resultate ich im weiteren noch zurückkommen werde, zeigen, daß verschiedene Impfschädigungen vorkommen können, beweisen aber noch nicht, wie Koritschoner und Schweinburg annehmen, die toxische Wirkung der normalen Nervensubstanz.

Was die Experimente von Koritschoner und Schweinburg, welche den Zweck verfolgten den Einfluß der normalen Nervensubstanz auf antirabische Lähmungen zu beweisen, anbelangt, so klären auch sie die uns interessierende Frage leider nicht im geringsten auf, da die Autoren, wie sie selber zugeben, infolge ungenügender Anzahl der Versuchstiere gezwungen waren, Kaninchen das Rückenmark von menschlichen Leichen einzuspritzen, obwohl man bei antirabischen Schutzimpfungen nichts mit menschlichen Leichen zu tun hat.

Laut Angabe der Verfasser haben dieselben nach Möglichkeit frisches Material angewendet, jedoch ist nirgends gesagt, wie lange nach dem Tode. Es ist klar, daß dieses eigentümliche Material nicht sehr frisch sein konnte. Daß es nicht tadellos gewesen ist, zeigen die erhaltenen Resultate, besonders daß eine ganze Reihe der Versuchstiere ausgeschaltet werden mußte, da dieselben an lokalen Abszessen oder an Sepsis erkrankten. Es wundert mich auch deshalb nicht, daß unter den übrigen Versuchstieren so unerwartete Resultate zu verzeichnen waren. Es wurden bei allen Versuchstieren, denen verschieden zubereitete Nervensubstanz einverleibt wurde, ein kolossaler Gewichtsverlust notiert (beim Durchschnittsgewicht von 3 kg ging im Mittel $^3/_4$—1 kg, also $^1/_4$—$^1/_3$ des Gesamtgewichtes verloren). 62 Kaninchen (von 78) erholten sich bald nach Beendigung der Impfungen, ein Teil derselben ging aber während der 3monatigen Beobachtungszeit an interkurrenten Krankheiten: Kopfräude, Coccidiose, Pneumonie usw. zugrunde. Eine ganze Reihe von interkurrenten Todesfällen unter 62 Kaninchen während einer so kurzen Zeit erregt überhaupt Zweifel, ob die zu Untersuchungen genommenen Kaninchen in gutem Zustande gewesen sind.

Von 78 Versuchstieren gingen 11 Kaninchen zugrunde. Außerdem erkrankten 5 an paralytischen Erscheinungen, wurden aber wieder gesund.

Ebensolche schwere Komplikationen erhielten Koritschoner und Schweinburg beim Injizieren des frischen oder erwärmten Materials aus den Muskeln oder der Milz von menschlichen Leichen.

Da während der Arbeit mit Materialien von menschlichen Leichen augenscheinlich eine toxische Substanz verwendet wurde (sogar Ver-

fasser geben zu, daß unbedeutende Veränderungen in der von ihnen gebrauchten Nervensubstanz vorkommen konnten), so ist es auch verständlich, daß beim Gebrauche der Dilutionsmethode von Högyes an 56 Kaninchen als sehr geringe Quanten der Nervensubstanz verwendet wurde, nur sehr geringer Gewichtsverlust und keine Lähmungen zu verzeichnen waren.

Auf Grund dieser Versuche kommen Koritschoner und Schweinburg zur Schlußfolgerung, daß die normale Nervensubstanz bei subkutanen Impfungen nach der Methode Pasteurs oder nach Babes-Puscariu bei Kaninchen ebensolche Lähmungen wie bei Menschen auslösen kann, weshalb empfohlen wird, nur die Methode Högyes zu verwenden, obwohl Schweinburg selber diese Methode in Wien nur bei schwachen Verletzungen gebraucht, in schweren Fällen dagegen nach Alivasatos impft, also sehr massive Dosen injiziert.

Der Gedanke, daß die Nervensubstanz, welche während der Schutzimpfungen einverleibt wird, verschiedene Komplikationen erzeugen kann, drängt sich freilich von selbst auf. Marie, Aujeßky, Heller und Bertarelli u. a. haben dies auch an einzelnen Versuchen gezeigt. Es wäre deshalb sehr verführerisch, die diesbezüglichen Experimente von Koritschoner und Schweinburg in dieser Richtung auszunützen, leider muß man aber auf Grund des obenangeführten sagen, daß diese Versuche uns nichts aufgeklärt haben. Sie haben nur bewiesen, daß das Rückenmark und andere Organe menschlicher Leichen (nicht gesagt, wie lange nach dem Tode) für Kaninchen bei subkutaner Applikation toxisch sind[1]).

Wie schon gesagt, hat Babes einer bedeutenden Anzahl von Hunden subkutan fremdartige Nervensubstanz einverleibt und zwar, im Vergleiche zum Gewichte der entsprechenden Tiere, in nicht geringeren Quanten als es Koritschoner und Schweinburg getan haben, jedoch hat Babes keine Schädigungen bei Hunden beobachten können. Die Anzahl der Versuchstiere war freilich zu gering, um die vollständige Unschädlichkeit dieser Substanz zu beweisen, wenn aber die Versuche von Koritschoner und Schweinburg, bei denen Schädigungen absolut bei allen Tieren vorkamen, maßgebend wären, so müßten Komplikationen auch in den Versuchen von Babes beobachtet worden sein.

Aus meinen Artikeln: „Immunisation gegen Tollwut mit verschiedenen Vakzinen“ und „Anaphylaxie bei antirabischen und anderen Impfungen“ ist zu ersehen, daß ich 34 Kaninchen und 3 Meerschweinchen verschieden zubereitete $^1/_2$proz., 1proz. und 10proz. antirabische Emulsionen im Laufe von 16—30 Tagen zu 1—5 ccm täglich (0,16—10 g der Hirnsubstanz) inokuliert habe, und daß in keinem Falle Lähmungen beobachtet wurden. Es ist dort noch gesagt, daß ich 8 Kaninchen längere Zeit subkutan in großen Quanten Milch, frisches normales Ochsengehirn, Cholera- und Divakzine injiziert habe, wonach ebenfalls keine Lähmungen beobachtet wurden. Nach meiner Arbeit: „Inaktivierte konservierte antirabische Vakzine 58—60“ habe ich noch 21 Kaninchen mit 1proz. und 10proz. antirabischer Vakzine „58—60“ im Laufe von 1—24 Tagen zu 2—4 ccm (0,02—1,6 g Hirnsubstanz) immunisiert und wiederum keine Lähmungen beobachtet.

1) Uebrigens haben die neulichen Versuche von Quast und Licht (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 98) auch in dieser Hinsicht die Ergebnisse von Koritschoner und Schweinburg nicht bestätigen können.

Tabelle III. (Impfstoff vom entbluteten Passagekaninchen.)

Nr. des Kaninchens	Immunisiert womit		zu wieviel com	wieviel Tage	Mark in g	Temperatur während der Impfungen Min.	Max.	An welchem Tage Grenze der norm. Temper. (40° für Kan.) während der Impf.	Temperatursteigerung an welchem Tage während der Impfungen	Temperatur währ. 14 Tagen nach den Impfungen Min.	Max.	An welchem Tage Grenze der norm. Temper. (40° für Kan.) nach den Impf.	Temperatursteigerungen an welchem Tage nach Beendigung der Impf.? 6	7	10	Gewicht in g nach wieviel Tagen während der Impfung? 0	7	14	21	27	Gewicht in g nach wieviel Tagen nach Beendigung der Impfungen? 3	5	7	11	13	19	26	33
311	Vakzine „58—60“ (25—30 Tage alt)	½ %	2	24	0,24	39,1	39,8	—	—	39,1	39,7	—	—	—	—	1890	1890	1955	1970	—	—	2030	—	—	2105	2210	2450	2590
312			2	24	0,24	39,0	40,0	18	—	39,2	39,7	—	—	—	—	1300	1368	1490	1568	—	—	1680	—	—	1760	1840	1960	2065
313			2	24	0,24	38,6	39,7	—	—	39,0	39,9	—	—	—	—	1283	1337	1470	1560	—	—	1670	—	—	1730	1785	1850	1955
314			2	24	0,48	38,5	39,4	—	—	39,0	39,6	—	—	—	—	2000	2053	2130	2125	—	—	2170	—	—	2160	—	2370	2400
315			2	24	0,48	38,6	39,3	—	—	38,9	39,4	—	—	—	—	1932	1930	1970	1915	—	—	1950	—	—	1930	1940	2110	2235
316		1 %	2	24	0,48	38,8	40,0	17	—	39,5	40,0	14	—	—	—	1627	1653	1735	1850	—	—	1970	—	—	1940	1890	1890	2025
317		2 %	2	24	0,96	38,9	39,9	—	—	39,3	39,7	—	—	—	—	1137	1170	1270	1390	—	—	1450	—	—	1600	1710	1890	1980
318			2	24	0,96	38,6	39,7	—	—	39,1	40,0	7	—	—	—	1810	1918	1900	1950	—	—	1990	—	—	2040	2105	2230	2325
319			2	24	0,96	38,8	39,5	—	—	38,4	39,4	—	—	—	—	2320	2430	2498	2575	—	—	2520	—	—	2145	2025	1960	1895
320			2	24	2,4	38,6	39,5	—	—	39,2	**40,1**	—	—	**40,1**	—	1565	1720	1830	1925	—	—	1975	—	—	2015	1970	2055	2175
321		5 %	2	24	2,4	38,8	39,3	—	—	39,2	**40,2**	—	**40,2**	—	—	2060	2110	2175	2150	—	—	2235	—	—	2235	2220	2245	2250
322			2	24	2,4	38,6	39,2	—	—	38,8	39,6	—	—	—	—	1945	1975	2055	2090	—	—	2075	—	—	2060	2045	2135	2245
323	Vakzine „58—60“ (10—11 Monate alt)		2	24	0,48	38,9	39,7	—	—	39,4	40,0	5	—	—	—	1385	1385	1500	1550	—	—	1590	—	—	1570	1695	1705	1795
324		1 %	2	24	0,48	38,8	39,9	—	—	39,5	39,9	—	—	—	—	1485	1508	1575	1640	—	—	1670	—	—	1740	1775	1870	2015
325			2	24	0,48	38,1	39,5	—	—	38,8	39,8	—	—	—	—	1095	1142	1240	1300	—	—	1370	—	—	1390	1440	1480	1460
326			2	24	0,48	38,5	39,4	—	—	39,1	39,3	—	—	—	—	1695	1737	1810	1850	—	—	1880	—	—	1930	1975	2040	2170
327		5 %	2	24	2,4	38,1	39,5	—	—	39,1	39,5	—	—	—	—	1310	1395	1520	1600	—	—	1615	—	—	1640	1655	1690	1745
328			2	24	2,4	38,4	39,8	—	—	39,2	**40,2**	—	—	—	**40,2**	1905	1975	1920	1980	—	—	2105	—	—	2260	2435	2640	2805
329			2	24	2,4	38,4	39,3	—	—	38,9	39,7	—	—	—	—	1930	1895	1955	1960	—	—	2005	—	—	2000	2055	2120	2185
330			2	24	2,4	38,9	39,7	—	—	39,2	39,6	—	—	—	—	1830	1850	1945	1960	—	—	1995	—	—	1990	2050	2130	2205
331	Getrocknetes 4—11tägig. Rückenmark		2	24	0,48	38,7	39,6	—	—	38,9	39,4	—	—	—	—	1945	1980	2030	2090	—	2145	—	—	2190	—	2310	2285	2300
332			2	24	0,48	39,1	39,6	—	—	38,9	39,5	—	—	—	—	1965	1930	2000	2085	—	2120	—	—	2200	—	2340	2425	2495
333			2	24	0,48	39,1	39,7	—	—	38,9	39,5	—	—	—	—	1605	1660	1710	1780	—	1790	—	—	1880	—	1935	2035	2070
334			2	24	0,48	39,0	39,5	—	—	38,8	39,4	—	—	—	—	1705	1810	1890	1950	—	2025	—	—	2110	—	2165	2205	2255
335			3	24	0,48	39,0	39,4	—	—	38,9	39,3	—	—	—	—	1925	2075	2225	2300	—	2410	—	—	2390	—	2460	2570	2555
336			2	24	0,48	38,7	39,4	—	—	39,0	39,6	—	—	—	—	2095	2095	2200	2280	—	2290	—	—	2380	—	2440	2570	2495
337			2	24	0,48	38,9	39,4	—	—	39,1	39,4	—	—	—	—	1895	1965	2025	2070	—	1960	—	—	2030	—	2110	2170	2230
338			2	24	0,48	39,1	39,7	—	—	39,4	39,8	—	—	—	—	1915	2010	2100	2140	—	2300	—	—	2420	—	2590	2650	2725
339	Emuls. a. fr. fix. Virus		2	28	0,03	37,5	39,8	—	—	38,9	39,9	—	—	—	—	1100	1035	980	940	1015	1040	1120	1195	1125	1105	1130	1260	1320
340			2	28	0,03	38,6	39,5	—	—	38,6	39,2	—	—	—	—	1780	1765	1795	1875	1810	1760	1730	1705	1750	1725	1760	1815	1820
341	Dilat. des Rückenm. 1:5000 bis 1:1000		2	28	0,03	38,9	**40,1**	—	**40,1**	39,3	40,0	13	—	—	—	1207	1250	1250	1370	1460	1495	1540	1610	1660	1690	1840	1925	2050
342			2	28	0,03	39,0	39,5	—	—	39,0	39,5	—	—	—	—	1548	1600	1730	1870	1970	—	—	2050	2075	2075	2205	2325	2430

Anm. zu Nr. 319. 37 Tage nach Beendigung der Impfungen Blepharitis. Nach weiteren 3 Tagen Paresen der Hinterbeine.
Anm. zu Nr. 340. 5 Tage nach Beendigung der Impfungen Tortikollis.

Ich habe außerdem noch 24 Tage hindurch zu 2 ccm täglich 32 Kaninchen wie folgt immunisiert: 20 Kan. mit $^1/_2$proz.—5proz. Vakzine „58—60“ (0,24—2,2 g Hirnsubstanz), 8 Kan. nach der modifizierten Methode Pasteurs: 4, 3, 2, 1, 4, 3, 2, 1, usw. (0,48 g) und 4 Kan. mit frischem rabischen Rückenmark in Dilutionen von 1:5000 bis 1:1000 (ca. 0,03 g Nervensubstanz) (s. Tab. III). Bei 2 von diesen Kaninchen wurden Lähmungen von unbekannter Herkunft beobachtet: beim Kan. Nr. 319, dem ich 2proz. Vakzine „58—60“ injizierte, wurden die Hinterbeine 64 Tage nach Beginn und 40 Tage nach Beendigung

Tabelle IV. (Impfungen

Nr. des Versuchstieres		Immunisiert: womit	zu wieviel ccm	wieviel Tage	Mark in g	Infiltr. an welchen Tagen	Temperatur während der Impfungen: Min.	Max.	Temperatursteigerung an welchem Tage der Impfungen: 5	6	9	12	15	Temperatur während 14 Tag. nach den Impf.: Min.	Max.	Temperatursteigerungen an welchem Tage nach den Impfungen: 4	11
Kan.	443	1proz. Emulsion aus dem Gehirn und Rückenmark gesunder entbluteter Kaninchen (frische Nervensubstanz wurde in Glyzerin aufbewahrt)	2	20	0,4	15—16	39,0	39,7	—	—	—	—	—	39,0	39,8	—	—
„	444		2	20	0,4	18—19	39,1	39,5	—	—	—	—	—	39,0	39,4	—	—
„	449		2	24	0,48	12—16, 23—24	38,6	39,6	—	—	—	—	—	39,0	39,8	—	—
„	450		2	28	0,56	18	38,8	39,6	—	—	—	—	—	39,1	39,8	—	—
„	469		2	28	0,56	15—19, 21, 23	38,5	39,7	—	—	—	—	—	38,9	39,6	—	—
Mschw.	387		1	12	0,12	—	37,8	38,3	—	—	—	—	—	37,8	38,2	—	—
„	389		1	12	0,12	—	37,8	38,2	—	—	—	—	—	37,8	38,9	—	—
„	405		1	12	0,12	7	37,8	38,2	—	—	—	—	—	37,8	38,4	—	—
„	408		1	12	0,12	12	38,1	**39,1**	—	—	**39,1**	—	—	38,0	39,0	39,0	39,0
„	410		1	12	0,12	—	37,8	38,5	—	—	—	—	—	37,4	38,5	—	—
„	413		1	12	0,12	12	37,8	39,0	—	39,0	—	—	—	37,8	38,3	—	—
„	451		1	12	0,12	—	38,1	38,7	—	—	—	—	—	38,0	38,9	—	—
„	452		1	12	0,12	—	37,7	38,7	—	—	—	—	—	38,0	38,6	—	—
„	461		1	12	0,12	—	38,0	38,7	—	—	—	—	—	38,0	38,5	—	—
„	349		1	16	0,16	—	37,5	38,4	—	—	—	—	—	37,7	38,9	—	—
„	369		1	16	0,16	—	37,5	38,8	—	—	—	—	—	37,4	38,4	—	—
„	411		1	16	0,16	12	37,8	38,4	—	—	—	—	—	37,8	38,9	—	—
„	416		1	16	0,16	—	37,9	**39,1**	**39,1**	—	**39,1**	—	—	38,0	39,0	—	39,0
„	455		1	16	0,16	12	37,0	38,0	—	—	—	—	—	37,2	38,0	—	—
„	377		1	20	0,2	13	37,6	38,5	—	—	—	—	—	37,8	38,5	—	—
„	378		1	20	0,2	13	37,5	38 3	—	—	—	—	—	37,3	38,0	—	—
„	406		1	20	0,2	—	37,8	38,6	—	—	—	—	—	38,0	38,5	—	—
„	412		1	20	0,2	13	37,5	38,7	—	—	—	—	—	37,7	38,6	—	—
„	417		1	20	0,2	14	37,9	38,7	—	—	—	—	—	38,0	38,9	—	—
„	418		1	20	0,2	—	38,0	38,7	—	—	—	—	—	37,9	38,7	—	—
„	350		1	24	0,24	7	37,6	38,2	—	—	—	—	—	37,7	38,7	—	—
„	352		1	24	0,24	—	37,4	38,4	—	—	—	—	—	37,2	38,4	—	—
„	370		1	24	0,24	14	37,6	**39,3**	—	—	—	**39,3**	—	37,7	38,4	—	—
„	470		1	24	0,24	—	37,5	38,7	—	—	—	—	—	37,5	38,5	—	—
„	381		1	28	0,28	13	37,5	38,6	—	—	—	—	—	37,6	38,5	—	—
„	388		1	28	0,28	—	37,5	38,4	—	—	—	—	—	37,8	38,7	—	—
„	414		1	28	0,28	13	37,5	38,5	—	—	—	—	—	37,8	38,4	—	—
„	438		1	28	0,28	22	37,8	38,7	—	—	—	—	—	37,8	38,8	—	—
„	439		1	28	0,28	12	37,5	**39,1**	—	—	—	—	**39,1**	37,8	38,5	—	—
„	441		1	28	0,28	13	38,0	38,6	—	—	—	—	—	37,8	38,5	—	—
„	442		1	28	0,28	17	37,8	38,5	—	—	—	—	—	37,8	38,8	—	—

der Immunisation gelähmt (der lange Termin spricht teilweise gegen die übliche antirabische Lähmung) und beim Kan. No. 340, dem frisches fixes Virus in obenangegebener Verdünnung eingeführt wurde, ist noch bis heute Torticollis vorhanden, der 5 Tage nach Beendigung der Impfungen angefangen hat und mit zeitweiliger Besserung und Verschlimmerung schon ca. 1 Jahr dauert. Die Ursache der Lähmungen ist unbekannt, wahrscheinlich aber sind nicht die Impfungen daran schuld, umsomehr da dem einen Kaninchen nach der Methode Högyes eine so unbedeutende Menge des Rückenmarks ein-

mit normaler Nervensubstanz.)

Gewicht in g nach wieviel Tagen während der Impfungen									Gewicht in g nach wieviel Tagen nach den Impfungen						Bemerkungen
0	1	4	7	11	14	17	21	25	1	2	7	11	14	19	
1340	1360	1410	1485	1495	1520	1585	—	—	—	1600	1635	1680	1720	—	
1290	1320	1350	1385	1390	1385	1450	—	—	—	1450	1475	1560	1600	1615	
1230	1230	1280	1320	1230	1280	1305	—	—	—	1385	1420	1490	1640	—	
1410	1435	1395	1440	1435	1440	1460	1470	1530	—	1580	1640	1660	—	—	
—	1970	1980	1980	2045	2060	2065	2100	2150	—	2210	2285	2350	—	—	
—	665	675	—	695	—	—	—	—	675	—	693	710	—	—	
—	535	555	—	580	—	—	—	—	545	—	590	600	—	—	
—	480	—	—	495	—	—	—	—	500	—	515	535	—	—	
450	465	—	475	520	—	—	—	—	510	—	545	575	—	—	Trächtig
540	—	—	—	580	—	—	—	—	575	—	560	605	—	—	
725	—	750	—	785	—	—	—	—	775	—	810	840	—	—	Trächtig
560	585	—	—	630	—	—	—	—	645	—	650	690	—	—	Trächtig
535	550	—	—	600	—	—	—	—	625	—	—	715	—	—	Trächtig
550	570	—	—	590	—	—	—	—	590	—	—	635	—	—	
650	650	—	—	695	675	—	—	—	—	700	720	—	—	850	Trächtig
705	750	—	—	770	765	—	—	—	—	785	800	—	—	840	
—	480	495	—	535	530	—	—	—	—	565	585	—	—	545	
360	380	—	—	410	435	—	—	—	—	430	465	—	—	540	
800	795	795	—	830	810	—	—	—	—	815	820	—	845	—	
565	580	595	605	620	625	640	—	—	—	—	710	740	770	825	
530	530	550	535	555	555	580	—	—	—	—	620	620	625	640	
390	400	425	425	440	435	445	—	—	—	—	480	475	505	530	
600	610	620	625	640	625	—	—	—	—	—	685	700	735	760	Trächtig
290	300	320	325	345	355	370	—	—	—	—	415	400	435	465	
250	255	270	265	290	290	290	—	—	—	—	330	330	345	375	
550	555	555	540	560	555	560	570	—	—	585	580	593	—	—	
—	685	690	685	695	700	685	695	—	—	720	715	715	725	—	
500	500	510	505	545	535	545	575	—	—	595	590	625	625	—	
—	532	540	530	545	530	555	550	—	—	570	565	570	575	—	
475	480	500	495	505	500	495	—	540	520	—	530	540	615	—	Trächtig
710	710	730	695	740	745	740	780	—	780	—	820	810	—	—	
830	830	845	835	845	790	835	925	—	910	—	975	1035	—	—	Trächtig
475	482	500	480	485	485	500	500	510	510	—	500	535	—	—	
400	400	416	380	390	400	400	415	415	415	—	405	435	—	—	
440	440	455	440	440	430	—	440	450	450	—	440	485	—	—	
450	450	480	460	460	460	480	—	480	450	—	465	505	—	—	

gespritzt wurde. Diese Serie Kaninchen hat eine gewisse Zeit gar kein Gemüse erhalten. Das Weibchen No. 319, das außerdem die ganze Zeit mit einem Männchen, welches es fortwährend belästigte, zusammensaß, warf 13 Tage nach Beendigung der Immunisation zum erstenmal 8 Junge, die es alle ernährte. Dabei verlor es bedeutend an Gewicht (am Anfang des Versuches 2320 g, vor dem Wurfe 2520 und 27 Tage nach dem Wurfe, als es erkrankte, 1865 g). Während dieser Zeit waren auch unter den gewöhnlichen Stallkaninchen 2 spontane Lähmungsfälle.

Unter 95 Kaninchen und 3 Meerschweinchen kamen also Lähmungen nur in 2 Fällen vor und auch diese wahrscheinlich nicht als Folge der Impfungen. Nur bei einem geringen Teil der Versuchstiere wurden Temperatursteigerung und Gewichtsverlust beobachtet, was ich schon früher als Anaphylaxie nach Applikation von fremder Hirnsubstanz erklärte.

Von diesen 98 Versuchstieren wurde zwar nur 11 fremdartiges Eiweiß, allen andern aber Nervensubstanz derselben Tierart injiziert, da aber bei ersteren die Komplikationen nicht ernster als bei letzteren waren, so zweifelte ich schon von vornherein daran, ob normale fremdartige Nervensubstanz solche vernichtende Wirkung, wie bei Koritschoner und Schweinburg beschrieben wurde, ausüben könnte.

Um mich davon noch mehr zu überzeugen, habe ich einer Serie von 31 Meerschweinchen normales Gehirn von Kaninchen injiziert

Tabelle V. Impfstoff vom zugrunde-

Nr. des Tieres	Immunisiert: womit	zu wieviel ccm	wieviel Tage	Mark in g	Temperatur während der Impfungen: Min.	Max.	An welch. Tage Grenze der norm. Temp. (40° f. Kan., 39° f. Meerschw.) während der Impf.	Temperatursteigerung an welchem Tage während der Impfungen: 7	9	10	11	12	14	15	16	17	19	20	22	23
Kan. 94	4—täg. Rückenmark (1proz. Emuls.)	4	24	0,96	38,9	39,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 102		4	24	0,96	39,0	**40,4**	—	—	—	**40,4**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 103		4	24	0,96	38,9	**40,4**	—	—	**40,4**	**40,4**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 104		2	30	0,6	38,8	40,0	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 105		2	30	0,6	39,1	40,0	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mschw. 85		1	20	0,2	38,4	**39,4**	8	**39,1**	**39,4**	**39,2**	—	**39,1**	—	**39,2**	—	—	**39,1**	**39,2**	—	—
Kan. 97	1proz. Vakzine „37—0" (6—29 Tage alt)	4	24	0,96	38,5	40,0	9 u. 11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 95		4	24	0,96	38,7	**40,5**	14	—	—	**40,2**	**40,2**	—	—	—	**40,5**	—	—	—	—	—
„ 96		4	24	0,96	38,7	**40,3**	9	—	—	—	**40,3**	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 101		4	24	0,96	38,9	**40,3**	—	—	—	**40,2**	**40,3**	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kan. 91	1proz. Vakzine „58—60" (7—31 Tage alt)	4	24	0,96	38,8	39,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 111		4	24	0,96	38,3	39,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 90		4	24	0,96	38,7	39,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mschw. 98		1	16	0,16	38,4	**39,2**	2, 11 u. 16	—	—	—	—	**39,2**	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 99		1	20	0,2	38,2	38,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kan. 132	1/2proz. Vakzine „58—60" (28—52 Tage alt)	5	24	0,6	38,7	39,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 133		5	24	0,6	38,9	40,0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 134		5	24	0,6	38,2	40,0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 135		5	24	0,6	39,0	39,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 137		5	24	0,6	38,8	**40,3**	18	—	—	—	—	—	**40,1**	—	—	**40,1**	—	—	**40,3**	**40,1**

Anm. zu Nr. 133 u. 134 Die Temperatur von 40°

die ich zu diesem Zwecke entblutete. Täglich wurde je 1 ccm 1proz. Emulsion von Gehirn und Rückenmark 12—28 Tage lang (0,12 bis 0,28 g der Hirnsubstanz) eingeimpft; dabei wurden weder Lähmungen noch Todesfälle beobachtet. Wie aus der Tab. IV zu ersehen ist, wurde bei etlichen Meerschweinchen nach 7—14 Tagen vom Beginn der Impfungen eine geringe Gewichtsabnahme notiert, jedoch war bei allen Meerschweinchen am Ende der Impfungen das Gewicht höher als am Anfang. Bei 5 Meerschweinchen dieser Serie bestand am 5., resp. 6., 9., 12. und 15. Tage und bei zweien noch am 4., resp. 11. Tage nach Beendigung der Impfungen eine geringe Temperatursteigerung (39,0—39,1° C und in 1 Fall 39,3°). Nicht früher als vom 6. Tage an waren bei mehr als der Hälfte kurzdauernde Infiltrate. 9 Meerschweinchen waren trächtig, haben aber die Injektionen nicht schlechter als andere vertragen. Es ist auffällig, daß kleine Meerschweinchen mit einem Anfangsgewicht von 250, 290, 360 und 390 g dieselben Impfdosen nicht schlechter, vielleicht sogar besser als die größeren Tiere vertragen haben. Dieses wird unter anderem auch bei Kindern beobachtet, die antirabische Schutzimpfungen im allgemeinen besser als Erwachsene vertragen, obwohl in vielen Instituten Kindern und Erwachsenen die gleichen Dosen einverleibt werden.

Vergleichen wir nun meine Resultate mit denen, welche Koritschoner und Schweinburg veröffentlicht haben. In etlichen Fällen

gegangenen Passagekaninchen.)

Temperatur nach den Impfungen			An welchem Tage Grenze der normalen Temperatur (40° für Kan., 39° f. Mschw.) nach den Impfungen	Gewicht nach wieviel Tagen während der Impfungen									Gewicht nach wieviel Tagen nach den Impfungen						
währ. wieviel Tagen	Min.	Max.		0	1	4	7	11	14	21	23	29	1	3	5	7	11	13	18
15	38,7	39,3	—	1360	1360	1370	1465	1390	1445	1490	—	—	1530	1550	1555	1565	1595	1600	—
7	38,9	39,3	—	1160	1275	1270	1285	1305	1315	1365	—	—	1440	1450	1480	1500	—	—	—
16	38,7	39,5	—	1810	1805	1880	1925	1905	1945	2015	—	—	2080	2085	2100	2105	2095	2120	—
13	39,1	39,6	—	1355	1350	1400	1505	1535	1525	1530	—	1605	1610	1620	1620	1665	1655	1630	1465
—	—	—	—	1200	1300	1305	1415	1405	1385	1460	—	1405	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	400	415	410	430	435	430	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	39,1	39,6	—	1050	1035	1080	1100	1090	1055	1165	1190	—	1140	1240	1250	1290	1350	1385	1435
9	39,0	39,5	—	1465	1490	1445	1485	1485	1450	1585	1645	—	1565	1650	1570	1685	1650	1685	1710
9	39,1	39,4	—	1165	1215	1195	1175	1200	1215	1205	1210	—	1235	1285	1265	1305	1305	1340	1395
9	39,2	39,7	—	1485	1490	1490	1500	1520	1475	1620	1620	—	1615	1655	1610	1625	1625	1665	1715
—	—	—	—	1320	1300	1245	1235	1245	1250	1280	1275	—	—	—	—	—	—	—	—
19	39,0	40,0	2	1135	1065	1085	1090	1050	1110	1130	1110	—	1155	1150	1155	1170	1215	1200	1170
19	39,1	39,7	—	1345	1330	1375	1365	1395	1440	1515	1545	—	1560	1610	1615	1645	1705	1700	1690
5	38,5	38,9	—	440	445	470	455	485	515	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	505	515	530	495	535	560	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	38,9	39,5	—	1700	1670	1640	1680	1790	1800	1840	1790	—	—	—	—	—	—	—	—
10	38,6	39,0	—	1770	1790	1920	1830	1990	2010	2060	2140	—	—	—	—	—	—	—	—
10	39,1	39,5	—	1970	1910	2050	2130	2230	2260	2280	2310	—	—	—	—	—	—	—	—
10	39,3	39,8	—	2130	2110	2130	2040	2180	2130	2180	2070	—	—	—	—	—	—	—	—
10	38,9	39,5	—	1210	1270	1310	1260	1240	1265	1245	1225	—	—	—	—	—	—	—	—

am 1. Tage noch vor Beginn der Impfungen.

dieser Autoren erlagen Kaninchen schon nach 14tägigen Impfungen zu 0,25 ccm nach dem Schema I (Kan. 28, 43 und 13), nach Injektion von nur 3,5 ccm Emulsion oder 0,1 g Nervensubstanz, also

Ta

Impfungen mit avirulenter

Immunisiert					Infiltrate an welchen Tagen	Temperatur während der Impfungen		Temperatursteigerung an welchem Tage während der Impfung?			Temperatur während 14 Tag. nach der Impfung	
Meerschw.	Womit	zu wieviel ccm	wieviel Tage	Mark in g		Minim.	Maxim.	6.	7.	22.	Minim.	Maxim.
480	1proz. Vakzine „58—60“ (42—62 Tage alt).	1	12	0,12	7—10	37,6	39,0	—	39,0	—	37,7	**39,2**
481		1	12	0,12	—	37,5	38,3	—	—	—	37,6	39,0
482		1	12	0,12	6—12	38,0	38,6	—	—	—	37,8	**39,1**
466		1	12	0,12	11—12	37,7	38,2	—	—	—	37,6	38,6
468		1	12	0,12	8—11	37,6	38,4	—	—	—	37,6	38,8
476		1	12	0,12	—	37,7	38,2	—	—	—	37,6	38,6
477		1	12	0,12	11—12	37,0	38,0	—	—	—	37,3	38,8
409		1	12	0,12	—	37,5	38,6	—	—	—	37,5	38,3
485		1	12	0,12	—	37,5	38,2	—	—	—	37,3	38,4
525		1	16	0,16	—	37,8	38,7	—	—	—	37,8	38,8
486		1	16	0,16	—	37,4	38,0	—	—	—	37,4	38,3
526		1	16	0,16	10—11, 15—16	37,6	38,5	—	—	—	37,9	38,8
371		1	16	0,16	—	37,6	38,4	—	—	—	38,0	38,5
530		1	16	0,16	—	37,5	38,5	—	—	—	37,8	38,7
531		1	16	0,16	—	38,0	38,8	—	—	—	37,6	38,7
532		1	20	0,2	18—19	37,6	38,3	—	—	—	37,5	37,9
533		1	20	0,2	9, 15—20	37,7	38,9	—	—	—	37,5	38,5
534		1	20	0,2	—	37,7	38,4	—	—	—	37,5	38,3
535		1	20	0,2	7—8, 12, 18—19	38.0	39,0	39,0	—	—	38,0	38,8
536		1	20	0,2	—	37,5	38,5	—	—	—	37,7	38,8
537	1proz. Vakzine „58—60“ (9—10 Mon. alt).	1	24	0,24	—	37,2	38,8	—	—	—	37,6	38,6
546		1	24	0,24	—	37,2	38,3	—	—	—	37,5	39,0
539		1	24	0,24	6—7, 20	37,4	38,5	—	—	—	37,8	38,7
540		1	24	0,24	18	37,4	38,4	—	—	—	38,0	38,5
541		1	28	0,28	19—22, 24—27	37,9	38,7	—	—	—	37,8	38,6
542		1	28	0,28	19, 27	38,0	**39,1**	—	—	**39,1**	37,8	39,0
543		1	28	0,28	19	37,7	38,5	—	—	—	37,5	38,5
544		1	28	0,28	6—11, 24, 26—27	37,6	38,8	—	—	—	37,5	38,1
545		1	28	0,28	22	37,5	38,6	—	—	—	37,5	38,1
538		1	28	0,28	20—22, 24—26	37,8	38,8	—	—	—	37,2	38,3
547		1	28	0,28	—	37,1	38,2	—	—	—	37,0	37,8
553	1proz. Vakzine „58—60“ (9 Mon. alt)	5	1	0,5	—	38,0	—	—	—	—	37,8	38,5
554		5	1	0,5	6—18 panzerartig	38,2	—	—	—	—	37,8	38,6
555		10	1	1,0	6—8	38,0	—	—	—	—	37,5	38,3

ungefähr 6—18mal weniger als ich Meerschweinchen injiziert habe (im Verhältnis zum Gewicht der Versuchstiere).

Ebensolches frisches Gehirn habe ich während 20—28 Tagen zu

belle VI.
antirabischen Nervensubstanz.

Temperatursteigerung an welchem Tage nach der Impf.?				Gewicht in g nach wieviel Tagen während der Impfung?									Gewicht in g nach wieviel Tagen nach der Impfung?					Bemerkungen
6	7	11	14	0	1	4	7	11	14	18	22	26	3	7	11	15	19	
—	—	39,2	—	358	360	380	345	375	—	—	—	—	—	417	—	425	445	
—	—	39,0	—	610	590	620	623	625	—	—	—	—	642	625	670	655	685	
—	—	39,1	—	520	535	545	550	555	—	—	—	—	562	580	—	575	590	
—	—	—	—	480	495	500	490	525	—	—	—	—	515	527	538	525	545	
—	—	—	—	530	545	550	530	550	—	—	—	—	542	565	—	565	585	
—	—	—	—	590	605	610	600	610	—	—	—	—	610	617	620	620	640	
—	—	—	—	500	500	530	515	540	—	—	—	—	525	545	545	535	550	
—	—	—	—	815	810	805	807	830	—	—	—	—	820	835	850	850	850	
—	—	—	—	757	775	780	765	765	—	—	—	—	775	800	820	795	855	Trächtig
—	—	—	—	270	260	295	305	340	350	—	—	—	370	400	410	450	470	
—	—	—	—	680	705	725	760	805	820	—	—	—	835	855	830	880	—	Trächtig
—	—	—	—	280	293	295	320	340	345	—	—	—	375	390	390	420	445	
—	—	—	—	640	665	675	640	650	652	—	—	—	655	670	680	670	660	
—	—	—	—	375	385	400	395	410	385	—	—	—	465	450	475	485	505	
—	—	—	—	335	335	365	367	380	375	—	—	—	410	410	430	455	470	
—	—	—	—	385	390	410	405	420	400	455	—	—	450	455	490	490	—	
—	—	—	—	400	405	490	435	455	425	480	—	—	485	505	540	560	—	
—	—	—	—	420	430	415	440	455	450	490	—	—	500	500	535	530	—	
—	—	—	—	340	335	360	375	380	395	440	—	—	—	465	500	535	—	
—	—	—	—	560	562	580	585	615	610	650	—	—	670	690	710	775	—	3 Tage nach Beendig.
—	—	—	—	655	650	670	675	700	680	700	735	—	725	575	540	—	→	Junge geworfen
39,0	39,0	—	—	730	735	750	785	830	860	895	905	—	910	635	645	630	635	6 Tage nach Beendig.
—	—	—	—	490	478	495	495	510	505	515	525	—	535	570	600	—	660	4 Junge geworfen
—	—	—	—	400	420	435	450	475	480	515	530	—	525	580	425	430	430	10 Tage nach Beendig.
—	—	—	—	430	450	440	435	485	492	545	575	590	645	645	665	680	—	2 Junge geworfen
—	—	39,0	39,0	430	440	455	460	505	515	550	555	570	640	425	435	460	—	7 Tage nach Beendig
																		2 Junge geworfen
—	—	—	—	490	500	500	515	560	580	625	655	680	720	745	775	810	—	Trächtig
—	—	—	—	525	530	540	542	565	538	590	—	—	660	705	720	730	—	Trächtig
—	—	—	—	650	660	665	658	680	640	700	715	725	710	715	740	730	—	Trächtig
—	—	—	—	520	522	540	543	565	562	570	590	580	600	585	—	600	—	
—	—	—	—	667	670	685	687	710	710	715	730	735	760	750	765	760	—	
—	—	—	—	475	—	—	—	—	—	—	—	—	512	530	537	585	620	Trächtig
—	—	—	—	385	—	—	—	—	—	—	—	—	435	470	—	515	550	Trächtig
—	—	—	—	475	—	—	—	—	—	—	—	—	505	515	512	525	535	

2 ccm einer 1proz. Emulsion (0,4—0,56 g Nervensubstanz) 5 kleinen Kaninchen) (Gewicht ca. 1500 g) injiziert. Es wurde also ungefähr um 8—12mal mehr einverleibt, als in etlichen Fällen von Koritschoner und Schweinburg, aber nur bei einem bemerkte ich 11—14 Tage nach Beginn der Impfungen einen geringen Gewichtsverlust, der sich dann bald wieder ausglich. Die Temperatur blieb normal während der Impfungen und nach Beendigung derselben (Tab. IV).

Somit ist zu ersehen, daß die verblüffenden Resultate von Koritschoner und Schweinburg nicht durch die Wirkung der normalen fremdartigen Nervensubstanz, sondern dadurch zu erklären sind, daß Kaninchen menschliches und dabei, wie die beiden Autoren selber zugeben, nicht ganz frisches Hirn injiziert wurde, in dem sich schon irgendwelches Toxin gebildet hatte, vielleicht das giftige Muskarin, welches sich nach Gadamer überall bilden kann, wo Cholin enthalten ist, somit in jedem Leichenmaterial vorhanden sein kann.

Daß nicht genügend frisches Gehirn mehr Schädigungen hervorrufen kann als ganz frisches ist aus meinen folgenden Versuchen ersichtlich. In meinem Artikel: „Anaphylaxie bei antirabischen und anderen Impfungen" ist unter anderen eine Tabelle angegeben, welche ich zum Vergleiche mit der Tab. 3 entsprechend umgearbeitet habe (s. Tab. V).

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß bei antirabischen Impfungen bei Kaninchen und Meerschweinchen öfters ziemlich bedeutende Temperatursteigerungen vorkommen. Diese Impfungen wurden von mir seiner Zeit im Odessaer Bakteriologischen Institut ausgeführt, wo damals der Impfstoff Kaninchen entnommen wurde die an fixem Virus zugrunde gegangen waren. Solchen Impfstoff verwendete ich auch in meinen damaligen Versuchen. Als ich nachher antirabische Impfungen mit Emulsion nach dem modifizierten Schema Pasteurs, mit verdünntem frischen fixen Virus und mit inaktivierter Vakzine „58—60" ausübte, habe ich den Impfstoff großen Passagekaninchen 6 Tage nach der Trepanation, als sie schon vom 5. Tage an gelähmt dalagen, entnommen (große Passagekaninchen erliegen bei uns der Wut nach 7 bis 8 Tagen). Es wurden nach Gebrauch dieses Impfstoffes viel leichtere Komplikationen beobachtet (s. Tab. III). Die Temperatur stieg dabei weniger als nach den früheren Impfungen und überhaupt nur dann, wenn massive Dosen einer 5proz. Emulsion und wenn frisches Virus sogar in größeren Verdünnungen gebraucht wurde.

Wir sehen somit, daß nach antirabischen Impfungen Komplikationen durch die einverleibte Nervensubstanz selbst hervorgerufen werden können, auch dann, wenn avirulente Vakzine gebraucht wird. Die Schädigungen sind desto geringer, je frischer die verwendete Hirnsubstanz ist. Jedenfalls aber haben diese Schädigungen, was Schwere und Häufigkeit anbelangt, nichts gemein mit dem, was Koritschoner und Schweinburg mit Materialien von menschlichen Leichen erhalten haben.

Ob bei diesen Komplikationen irgendwelche Rolle das Wuttoxin nach Babes spielt, kann man aus der in Tab. VI angegebenen Serie von Versuchen schließen. In dieser Serie wurden, wie auch in der früheren (Tab. IV), 31 Meerschweinchen geimpft. Es wurden ihnen ebensoviel Nervensubstanz appliziert, jedoch wurde auf 58—60° $^1/_2$ Std. erwärmte antirabische Vakzine — $^1/_2$ Proz. Phenol gebraucht, und

zwar für einen Teil der Versuchstiere eine $1^1/_2$—2 Monate alte und für den Rest eine 9—10 Monate alte Vakzine.

Aus diesen Versuchen kann man den Schluß ziehen, daß gleichgültig, ob frische normale Nervensubstanz oder abgetötete antirabische Vakzine injiziert wurde, gleichartige Komplikationen bei den Versuchstieren beobachtet werden konnten. Die antirabische Vakzine löste sogar etwas gelindere Erscheinungen aus als normale Nervensubstanz, so daß diese Komplikationen nicht der Wirkung des Wuttoxins, sondern der Nervensubstanz zuzuschreiben sind.

Die Schädigungen wurden nur bei einer geringen Anzahl der Versuchstiere beobachtet und bei weitem nicht proportional den eingeführten Quanten des Gehirns. So vertrugen die Meerschweinchen 480, 481, 482, denen nur 0,12 g appliziert wurde, die Impfungen schlechter als die Meerschweinchen 547, 541 und 543, welchen ich zu 0,28 g injiziert habe. Ungeachtet des Quantums kamen Komplikationen nicht vor dem 6.—9. Tage nach Beginn der Impfungen zum Vorschein. Jüngere Tiere haben augenscheinlich auch in dieser Serie die Impfungen besser als ältere und trächtige nicht schlechter als die übrigen vertragen. Die Komplikationen hängen wahrscheinlich von der individuellen Empfindlichkeit ab, die in großen Grenzen schwankt. So wurden den Meerschweinchen 553, 554, 555 (s. Tab. VI) auf einmal 5—10mal mehr der antirabischen Nervensubstanz eingespritzt als anderen während 12 —28 Tagen, und doch war bei keinem von diesen Tieren weder Temperatursteigerung noch Gewichtsverlust zu verzeichnen. Diese Erscheinungen muß man deshalb auf besondere Empfindlichkeit etlicher Tiere gegenüber der fremdartigen und fremden eigenartigen Nervensubstanz zurückführen (s.folgenden Abschnitt).

Einfluß der Anaphylaxie auf antirabische Lähmungen.

Schon im Anfang der Aera der antirabischen Schutzimpfungen hat man die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, daß während der Impfungen an den Impfstellen hin und wieder eine Röte zutage tritt. Man versuchte diese Erscheinungen zuerst durch die Intensität der Behandlungsweise zu erklären, was aber späterhin sich nicht als richtig erwies.

Manchmal erscheinen an den Impfstellen Infiltrate. Es können kleine, schnell vorübergehende, können aber auch panzerartige (nach Babes) sein.

Diese lokale Reaktion kann manchmal auch von einer Temperatursteigerung begleitet werden.

Krajuschkin hat diese Erscheinungen durch Verunreinigung der Emulsion durch banale Bakterien erklärt. Kühne, der unlängst darauf aufmerksam gemacht hat, wie oft die antirabische Emulsion durch Mischbakterien verunreinigt wird, führt ebenfalls die Komplikationen auf Mischbakterien zurück. Zu dieser Schlußfolgerung kam auch Remlinger.

In dem mir von Herrn Prof. Carini (Dir. des Pasteurinstituts in S. Paolo, Brasilien) freundlichst zugeschickten Artikel von Marques wird die Vermutung ausgesprochen, daß diese Reaktionen vielleicht anaphylaktische Erscheinungen sind, die durch die Zufuhr der Nervensubstanz oder des fixen Virus hervorgerufen werden.

Die Vermutung betreffs der Anaphylaxie wird auch von Frugoni und Gargiano ausgesprochen.

In meinem Artikel: „Anaphylaxie bei antirabischen und anderen Impfungen" habe ich schon gezeigt, daß ich bei Menschen diese Reaktionen nach antirabischen Impfungen gewöhnlich nach der 6.—9. Impfung beobachtet habe. Ebensolche Erscheinungen habe ich, wie daselbst angegeben, auch bei Kaninchen und Meerschweinchen während der Immunisation mit verschiedenen Vakzinen bemerkt. Wie bei Menschen, so auch bei Versuchstieren habe ich diese Reaktionen auch nach der Impfung mit abgetöteter und absolut steriler Vakzine beobachtet und habe sie deshalb nicht durch Verunreinigung des Impfstoffes, sondern durch Anaphylaxie nach Einverleibung fremdartiger Eiweißkörper erklärt.

Diese antirabischen Erscheinungen habe ich in der angegebenen Arbeit in keinen Zusammenhang mit antirabischen Lähmungen gestellt. Jedoch spricht die Arbeit von Koritschoner und Schweinburg, in der die Entstehung der antirabischen Lähmungen durch die Wirkung der Toxine der normalen Nervensubstanz erklärt und der Einfluß der Anaphylaxie ganz verneint wird, meines Erachtens gerade dafür, daß Anaphylaxie bei diesen Paralysen wahrscheinlich nicht die letzte Rolle spielt.

Koritschoner und Schweinburg haben 39 antirabische Lähmungen veröffentlicht. Diese Lähmungen verliefen verschiedenartig, von den leichtesten Andeutungen, welche 3—5 Tage dauerten (Fälle 15, 16, 24, 25, 26, 36), bis zu sehr schweren und langwierigen (11, 17, 20, 22, 33) oder sogar mit letalem Ausgange (1, 2, 7, 8, 31, 32, 34, 37, 39). Bei vielen wurde 6—9 Tage nach Beginn der Impfungen lokale Reaktion beobachtet, meistens sehr intensive, welche in der Hälfte der Fälle mit Temperatursteigerung verbunden war. Diese Komplikationen (Infiltrate und Temperatursteigerung), begleiteten zwar nicht immer sogar die schwersten Fälle mit letalem Ausgange; dies ist jedoch verständlich, da die antirabischen Lähmungen verschiedenartigste klinische Bilder darbieten können (Sterling, Hübner, Müller etc.), im allgemeinen aber sehen wir einen glatten Uebergang von lokaler Reaktion und den leichtesten Schädigungen bis zu den schwersten, so daß man unwillkürlich auf den Gedanken kommt, daß in manchen Fällen ein Zusammenhang zwischen der Ueberempfindlichkeit mancher Personen gegenüber der Nervensubstanz und den antirabischen Lähmungen existieren muß, umsomehr, da diese Reaktionen und Paralysen hauptsächlich bei intelligenten und nervösen Personen und unter anderem ziemlich selten bei Kindern vorkommen.

Da sogar die geringste lokale Reaktion bei weitem nicht bei allen Schutzgeimpften beobachtet werden, manchmal aber bei solchen vorkommen, die im Vergleich zu anderen sehr geringe Dosen der Emulsion erhalten haben, so muß man wohl die im vorigen Abschnitte angegebenen Komplikationen, welche nach der Einverleibung fremder Nervensubstanz (es ist gleich ob normale oder rabische) entstehen, teilweise als Ueberempfindlichkeit oder anaphylaktische Erscheinungen ansehen. Daß nicht nur zu ganz leichten Schädigungen, sondern auch zu antirabischen Paralysen eine besondere Neigung bestehen muß, kann man deutlich aus dem Material von van Genderen ersehen, nach dem auf 3352 geimpfte Europäer 9 Lähmungen, auf 6592 Insulaner (auf der Insel Java), welche mit demselben Impfstoff und nach derselben Methode

geimpft wurden, während dieser Zeit dagegen keine einzige Lähmung vorkam.

In der mir vom Herrn Prof. Obrastzow freundlichst zugeschickten Monographie: „Antirabische Lähmungen und Hypothesen über deren Entstehung" beschreibt der Autor sehr sorgfältig 2 Fälle von Paralysen bei Frauen nach Schutzimpfungen. Eine Patientin bemerkte 7 Tage nach Beginn der Impfungen eine Rötung der Impfstellen. Etliche waren schmerzhaft und sehr geschwollen (bis zur Größe eines Taubeneies). Die Temperatur stieg auf 39°, gefolgt von starkem Unwohlsein und Erbrechen. Es wurde ein Intervall von 3 Tagen gemacht, darauf wurde die Temperatur wieder normal. Als mit den Impfungen von neuem angefangen wurde, stieg die Temperatur wiederum auf 39°, wiederum traten Erbrechen, Unwohlsein, auch Kopf-, Arm- und Beinschmerzen auf. Danach bildeten sich allmählich Lähmungen der Beine, der Blase und des Darmes und Anaesthesie der Haut bis zu den Brustwarzen aus. Danach trat Decubitus ein und nach ca. 9 Monaten erfolgte der Tod an Septicaemia. Obrastzow spricht die Vermutung aus, daß die Lähmungen vielleicht durch die Erscheinungen der Anaphylaxie erklärt werden können. Er besteht aber darauf nicht, sondern schließt auch die Hypothese nicht aus, daß vielleicht das Wuttoxin oder das fixe Virus entsprechende Wirkung auf das Nervensystem ausüben und die klinischen Symptome auslösen können.

Die Beobachtungen von Koritschoner und Schweinburg, wo meines Erachtens ein glatter Uebergang von lokaler Reaktion und Temperatursteigerung bis zu Lähmungserscheinungen existiert und meine oben beschriebenen zahlreichen Versuche geben mir das Recht, schon mit größerer Bestimmtheit zu behaupten, daß ein Teil der Lähmungen der Anaphylaxie zuzuschreiben ist.

Als anaphylaktische Erscheinungen muß man wahrscheinlich auch die Lähmungsfälle ansehen, die bei etlichen von den über 100000 mit abgetöteter Vakzine nach der Methode Umeno und Doi geimpften Hunden beobachtet wurden, da eine so geringe Anzahl von Lähmungen unter einer so riesenhaften Anzahl geimpfter Hunde beweisen, daß hin und wieder etliche Exemplare besonders empfindlich gegen die Einverleibung der Nervensubstanz sein müssen.

Die individuelle Ueberempfindlichkeit wird sich wohl bei ungünstigen Lebensverhältnissen verschärfen müssen, wodurch auch wahrscheinlich die Häufigkeit der Lähmungen in den letzten Jahren in Deutschland und Oesterreich sich erklären läßt. Vielleicht ist diese Ueberempfindlichkeit auch bei verschiedenen Nationen nicht gleichartig ausgeprägt.

Schlußfolgerungen.

Die Wuttoxine haben, wie meine Versuche zeigen, wahrscheinlich keinen Einfluß auf das Entstehen der antirabischen Paralysen.

Die normale fremdartige oder fremde eigenartige Nervensubstanz kann ebenso wie die antirabische Emulsion bei subkutanen Injektionen verschiedene Komplikationen hervorrufen, welche teilweise den Charakter von anaphylaktischen Erscheinungen haben.

Die Anaphylaxie verursacht wahrscheinlich zuweilen Lähmungen nach Schutzimpfungen, da im Durchschnitt nach 7—10 Tagen nach Beginn der Impfungen ein glatter Uebergang von den Infiltraten an den Impfstellen bis zu den schwersten Komplikationen beobachtet werden kann. Der Zusammenhang ist auch darin zu sehen, daß anaphylaktische wie auch paralytische Erscheinungen zumeist bei intelligenten, nervösen Personen und selten bei Kindern vorkommen.

Da die antirabische Vakzine aus dem Hirn gestorbener Passagekaninchen stärkere anaphylaktische Erscheinungen auslöst als aus dem Hirn entbluteter, sollte man stets zur Herstellung der Vakzine für Schutzimpfungen die mit fixem Virus infizierten Kaninchen entbluten und zwar, wenn sie paralysiert liegen oder vielleicht sogar dann, wenn bei ihnen nach 3—4 Tagen das erste Symptom der Krankheit, nämlich eine sehr hohe Temperatur, bemerkbar wird.

Nachdruck verboten.

Die Ursachen der antirabischen Paralysen.

[Aus dem Swerdlowsker Bakteriologischen Institut (Dir.: Prof. Dr. Stepanow-Grigorjew).]

III. Mitteilung.

Von Dr. **Otto Herrmann,** Abteilungsleiter.

Betreffs des Einflusses des Straßen- und fixen Virus, des Wuttoxins und der normalen Nervensubstanz auf die Entstehung der antirabischen Lähmungen s. Mitteilungen I u. II.

Antirabische Lähmungen psychogener Herkunft.

Schon Pasteur hat einen Teil der antirabischen Lähmungen durch Hysterie erklärt und hat diese Form der Krankheit durch „fausse rage" bezeichnet.

Zu einer solchen Erklärung der Lähmungen kann man sehr leicht kommen, wenn man daran denkt, daß bei verschiedenen nervösen Personen zuweilen ein klinisches Bild der Tollwut inklusive Hydrophobie und sogar furiöser Anfälle mit Beißsucht beobachtet wurde, welches, nachdem die Kranken sich überzeugten, daß bei ihnen nur eine eingebildete Wut besteht, bald wieder verging (Barboutini, Trousseau, Renault, Lebel, Pampoukis, vielleicht auch der kombinierte Fall von Henneberg).

Die Fälle von Kozewalow aus dem Jahre 1909, bei denen im Laufe von einem Monate nach dem Einschalten von 1tägigem Mark in das Schutzimpfungschema ungefähr bei 20 Personen 1—2 Tage dauernde leichte Andeutungen von Lähmungserscheinungen beobachtet

wurden, wird man wohl auch nur als Produkt der Psyche ansehen dürfen. Alle diese Komplikationen bestanden darin, daß entweder Parese einer Hand, oder der Beine oder des N. facialis, oder leichte Paraplegien, oder teilweise Retentio urinae beobachtet wurden, die nach 1—2 Tagen wieder vergingen. Nachdem das 1tägige Mark wieder ausgeschaltet wurde und die Impfungen wie früher mit 2tägigem Marke endigten, kamen die Komplikationen nicht mehr vor. Es ist somit klar, daß Kozewalow als Anhänger der Schädlichkeit des fixen Virus nach dem Einschalten des 1tägigen Markes die Patientin eifrig über deren Wohlbefinden befragte und diese, nachdem sie die Unruhe des Arztes bemerkten, ebenfalls ängstlich wurden und bei sich dann verschiedene Komplikationen vorfanden. Daß die Schädigungen nicht organischer, sondern funktioneller psychogener Herkunft waren, tritt dadurch klar hervor, daß dieselben nur 1—2 Tage dauerten und überhaupt einen verschwommenen Charakter aufwiesen.

Daß solches Befragen einen sehr erheblichen Eindruck auf die Patienten ausübt, habe ich mich persönlich überzeugen können, als ich in Zusammenhang mit meiner Arbeit über Anaphylaxie dieselben über Infiltrate an den Impfstellen befragte. Patienten, welche bis dahin sich wohl befanden, wurden auf einmal unruhig und fingen an über Kopfschmerzen oder Unwohlsein, oder Schwäche in den Armen etc. zu klagen und erkundigten sich nun bei mir oder bei anderen, ob Infiltrate oder überhaupt Impfungen nicht gefährlich sind. Als ich ihnen aber erklärte, warum mich die Infiltrate interessierten, beruhigten sie sich bald wieder und fanden weiter keine Krankheiten bei sich.

Als andererseits in Odessa 1922 für alle Patienten das Schema (4, 3, 2, 1)n, anstatt des früheren Schemas für Schwerverletzte (6, 4, 3, 2, 1)n und für alle anderen (6, 4, 3, 2)n eingeführt, mit anderen Worten für alle 6tägiges Mark ausgeschaltet und 1tägiges eingeschaltet wurde, die Patienten aber darüber nicht informiert waren, sind absolut keine Schädigungen beobachtet worden. Falls das 1tägige Mark solche Rolle spielen würde, so müßte man auch in Odessa derartige Komplikationen beobachten, wie Kozewalow, da man wohl einzelne leichte Lähmungen verpassen kann, wenn sie aber massenhaft auftreten, so dürften sie wohl nicht unbemerkt bleiben.

Ungefähr derselben Art wie bei den von Kozewalow beschriebenen Fällen muß wahrscheinlich auch ein Teil der Lähmungen von Puscariu gewesen sein. Von den von ihm beobachteten 15 Lähmungen sind nur 10 kurz beschrieben worden. Es handelte sich durchgängig um außerordentlich geringe Schädigungen, d. h. Retentio urinae et alvi und unbedeutende Beinschmerzen, welche nach etlichen Tagen wieder vergingen, außer 2 Fällen, die den Typus der aufsteigenden Lähmungen aufwiesen und ca. 3 Wochen anhielten. Auch hier, wie in den 20 Fällen von Kozewalow, ist charakteristisch die Geringfügigkeit der Schädigungen, die kurze Dauer derselben und der Umstand, daß sie auch alle gehäuft vorkamen (alle sind unter 1900 notiert). Daß diese Lähmungen keinen Zusammenhang mit der Behandlungsweise hatten, wie allgemein angegeben wird, habe ich schon oben gezeigt.

Wenn wir unsere Aufmerksamkeit auf die Beobachtungen von Schweinburg lenken, der fast alle Patienten vor Beginn, während der Impfung und im Laufe von 2 Wochen nach denselben untersucht hat (2024 Personen), so werden wir bemerken, daß beinahe die Hälfte

davon über Gefühl eines allgemeinen Unwohlseins, große Müdigkeit, Appetitlosigkeit, andauernde Kopfschmerzen, Schlaflosigkeit, nervöse Erregungszustände oder depressive Verstimmung klagte. Die Beschwerden dauerten manchmal viele Wochen lang. Da wir wissen, daß Schweinburg die Schädlichkeit der Nervensubstanz anerkennt, so werden wir den seinerseits ganz unwillkürlich ausgeübten psychologischen Einfluß auf die Patienten verstehen. Es gibt nicht wenig Personen, sagt Platonow, bei welchen durch Suggestion im wachenden Zustande alle Erscheinungen hervorgerufen werden können, wie im hypnotischen Schlafe: Halluzinationen, Wechsel der Stimmung, motorische Lähmungen etc. Außer dem suggestiven Einfluß des Arztes, müssen wir auch in Betracht ziehen, daß die Gebissenen ganz oder teilweise ihren alltäglichen Beschäftigungen entrissen werden, und daß ihre Gedanken und Gespräche sich hauptsächlich auf Schutzimpfungen lenken, wer, wann, von wem und wo gebissen worden ist, über die Gefahr, die sie dabei laufen etc., so daß, falls die Impfungen auch ganz indifferent sein würden, was man aber keineswegs sagen kann, man auch dann sogar ohne entsprechende Suggestion seitens des Arztes alle diese unbedeutenden Beschwerden erwarten könnte.

Nervöse oder ängstliche Personen, zumal wenn sie noch mit einiger Verspätung zu den Impfungen ankommen, klagen öfters noch vor Beginn der Impfung über verschiedene Beschwerden: Kopfschmerzen, Schwere in den Füßen, Schmerzen an der Bißstelle, manchmal sogar über Spasmen der Schlund- und Atemmuskulatur. Bei den meisten von diesen Personen mit ihrem in einer spezifischen Richtung gelenkten Erregungszustand erhält man aber schnell und andauernd Erleichterung beim entsprechenden Einfluße des Arztes.

Während meiner Praxis kamen bei den Geimpften folgende Fälle von Lähmungen psychogener Herkunft vor:

1) Arzt B. hat sich mit seiner Frau am Odessaer Bakteriologischen Institut 1922 antirabischen Impfungen unterworfen, da beide von einem tollwutverdächtigen Hunde gebissen wurden. Es wurde damals schon während etlicher Monate das meinerseits modifizierte Schema (4, 3, 2, 1), bei welchem 1tägiges Mark jeden 4. Tag vom 3.—4. Tag an eingeschaltet wurde, angewendet, wobei etliche Aerzte am Institut zu dieser Neuerung sich zurückhaltend verhielten und Lähmungserscheinungen erwarteten. Als mit der Impfung des Ehepaares begonnen wurde, war ich abwesend, und als ich wieder ins Institut kam, erfuhr ich, daß bei ihnen während dieser Zeit Parese der Beine und Arme beobachtet wurde und man deshalb gezwungen war, die Impfungen aufzugeben. Da der Arzt meines Erachtens im Verhältnis zu den Verletzungen viel zu wenig Impfungen erhalten hatte, gab ich ihm den Rat die Impfungen fortzusetzen. Betreffs der Beschwerden bei seiner Frau kam der Arzt während dieser Zeit selber zur Ueberzeugung, daß die Schmerzen und leichte Parese der Extremitäten rheumatischer Natur waren, was dagegen ihn selbst anbetraf, so war er der Meinung, daß die Impfungen bei ihm Parese der Beine hervorgerufen haben, welche sogar den Gang erschwerten, obwohl er wegen eines kurz vor Beginn der Impfung beim Fallen erlittenen Traumas nur mit Hilfe des Stockes gehen konnte. Als ich ihn sah, hatte er sich schon erholt, jedoch bekam er, wahrscheinlich in Erwartung neuer Lähmungserscheinungen nach weiteren Injektionen, einen Tag vor Erneuerung der Impfungen wieder zuerst Parästhesie (Ameisenlaufen) und nachher auch leicht ausgeprägte Parese, jedoch schon am folgenden Tag nach der Wiederaufnahme der Impfungen, vielleicht deshalb, weil er sah, wie gelassen ich dies aufnahm, waren alle Erscheinungen wieder vorbei. Er beendigte danach die Kur ohne weitere Beschwerden. Wir sehen, daß in diesem Falle eine Parese unter Einfluß der Psyche sich erneuerte noch vor Beginn der Impfungen, jedoch wiederum schnell verging, als der Patient sich anscheinend beruhigte.

2) N. M. J. (Poltawa), Lehrerin, 41 J., kam zu mir mit ihrer Schwester nach Schluß der Beschäftigungen im Institut in sehr aufgeregtem Zustande mit der

Bitte, sofort ohne Aufschub die Schutzimpfungen anzufangen, da bei ihr schon die Wasserscheu eintrete, es hätten sich bereits Spasmen der Schlundmuskulatur eingestellt. Es stellte sich heraus, daß ein Hund sich auf sie geworfen hat, sie aber nicht gebissen hatte, da es ihr gelang, ihn mit einem Muff abzuwehren. Den Muff hat Patientin dann nach ihrer Angabe ans Gesicht gedrückt; an den Lippen und unter der Nase aber hatte sie in Zusammenhang mit Herpes labialis zerkratzte Stellen. Der Hund, der sie angefallen hatte, wurde, wie sie erfuhr, erschlagen und untersucht, es wurden bei ihm Negrikörperchen im Ammonshorn nachgewiesen. Ich beruhigte die Patientin, und ließ mit den Impfungen sofort beginnen (2. 1. 25). Die Patientin, eine sehr nervöse Person, war die ganze Zeit sehr aufgeregt, beendigte aber die Impfung am 25. 1. 25 ohne besondere Komplikationen (es wurden Rötungen und Infiltrate an den Impfstellen beobachtet). Ich erfuhr nachher von der Schwester, daß bei der Patientin nach den Impfungen sich Parese der Extremitäten eigestellt habe, die vom Arzte, der sie behandelte, als Kaninchenlyssa angesprochen wurde. Die Schwester beruhigte sich aber, als sie erfuhr, daß der Patientin wie allen anderen Gebissenen zu der Zeit in Poltawa avirulente Vakzine injiziert worden war.

Am 26. 1. 26, also ein Jahr nach Beendigung der Impfung, erhielt ich von meinem früheren Mitarbeiter, Herrn Wenglinsky, der die Patientin meiner Bitte gemäß aufsuchte, folgende Mitteilung. Nach der 12. Impfung (14. 1. 25) soll bei 1. ein stenokardischer Anfall gewesen sein. Nach Beendigung der Impfung habe sie unerklärliche Angst ausgestanden. Nachts zwischen 12—2 Uhr hatte sie öfters panischen Schrecken, es bestanden bei ihr Spasmen der Glottis, Erstickungsgefühl, Genickschmerzen und Schwere in den Beinen, sie bekam Darmschmerzen, konnte nichts Saures, Salziges oder Scharfes essen. In der 1. Hälfte April fühlte sie sich ziemlich gut, vom 15. aber bekam sie Blutungen aus dem Genitale, welche bis zum 15. Mai dauerten. Der sie behandelnde Arzt S. (Therapeut) hatte sie darauf vorbereitet, daß, falls bei ihr Blutungen eintreten würden, diese auf die Vergiftung durch die Impfungen zurückzuführen sein würde, da seiner Erachtung sie zu viel Impfungen erhalten habe. Er fand bei ihr Unregelmäßigkeit des Blutumlaufs und schwere Neurosis. Im Juli, als Patientin sich schon ziemlich wohl fühlte, bekam sie nach einem Flußbad des Nachts unerwartet Spasmen der Atemmuskulatur, Erstickungsgefühl und Nackenschmerzen. Arzt G. (Therapeut) gibt an, daß die Patientin während 1—2 Monaten nach Beendigung der Impfungen des Nachts Angst ausstand, schwermütig war, Herzklopfen, Spasmen des Schlundes und Parese der Beine hatte. Sie hatte Zittern und Schwäche in den Beinen und konnte nicht stehen. Die bei der Kranken aufgetretenen Blutungen aus dem Genitale erklärte er durch einfachen Zufall. 14. 1. 26. — Allgemeiner Zustand ziemlich gut. Patientin beschwert sich über allgemeine unbedeutende Schwäche und leichtes Schwindelgefühl. Arzt G. findet bei ihr allgemeine Nervosität, Schlaflosigkeit, manchmal unerklärliche Angstanfälle, hauptsächlich während der Nacht, da er meint, daß bei ihr Kaninchenlyssa und Erscheinungen der Intoxikation beständen und teilte zugleich meinem Mitarbeiter mit, daß nach seinem Besuche bei der Patientin wiederum Anfälle von Herzklopfen begannen und sie wieder Angst bekommen habe, tollwutkrank zu werden etc.

Dieser Fall zeigt meines Erachtens deutlich, daß alle diese Komplikationen psychogener Natur waren. Sie traten klar zutage noch vor Beginn der Impfungen, als die äußerst nervöse Person erfuhr, daß der Hund, der sie anfiel, tollwütig war, und zwar hatte sie schon damals Spasmen der Schlundmuskulatur und war überzeugt, daß bei ihr Hydrophobie anfinge. Solange die Patientin die Impfungen erhielt und unter meiner Beobachtung war, beruhigte sie sich leicht und die Beschwerden hörten bald auf. Nach Beendigung der Kur bekam sie wieder Angst und es stellten sich verschiedene Komplikationen ein. Die Angabe der Aerzte, daß bei ihr Kaninchenlyssa bestände, und die Voraussage des einen Arztes, daß sich bei ihr Blutungen einstellen können, konnte freilich nicht beruhigend auf die Kranke einwirken. Als schon alle Komplikationen vergangen waren und nur allgemeine Nervosität verblieb, die auch vor der Impfung in hohem Grade bestand, genügte die Visite seitens meines früheren Mitarbeiters und die seinerseits an sie gerichteten vorsichtigen Fragen, um wiederum stenokardische

Anfälle, Angst, tollwutkrank zu werden, und andere Komplikationen bei ihr hervorzurufen.

Wir sehen somit, daß nach den Schutzimpfungen auch Schädigungen psychogener Natur sein können. Daß man aber in der Deutung der Lähmungen in dieser Richtung nicht zu weit gehen darf, zeigt der Fall von Calabrese (beschrieben von Pelser), wo bei einem neuropathischen Mädchen die Diagnose Hysterie gestellt wurde, nach wenigen Tagen jedoch der Tod erfolgte und der Tierversuch Tollwut ergab.

Lähmungen nach Schutzimpfungen wegen zufälliger interkurrenter Krankheiten oder wegen Verunreinigung des Impfstoffes durch Mischbakterien.

Chailloud veröffentlichte folgenden Fall: Eine von einer Katze gebissene Frau starb nach den Impfungen, die Autopsie ergab durch Pneumokokken hervorgerufene Menigomyelitis.

Rendu beschrieb eine Lähmung bei einem Leichendiener, der, nachdem er sich während der Obduktion eines an Tollwut Gestorbenen gestochen, sich den Schutzimpfungen unterworfen hatte. Brouard nimmt an, daß die Lähmung durch das Leichengift ausgelöst werden konnte.

Müller lehnt in dem von ihm beschriebenen Lähmungsfalle den Gedanken einer Lues cerebrospinalis ab, obwohl sein Patient 15 Jahre vor der Lähmung ein Ulcus durum gehabt hatte. Daß aber die Folgen der früheren Syphilis sich mit der Tollwut kombinieren können, zeigt mein Fall Sk., bei dem Tollwut und Dementia tabica gleichzeitig ausbrachen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. H. 1.) Der Fall von Heydenreich ist leider in dieser Richtung nicht untersucht worden, obwohl starke Beklemmungen im oberen Brustteil, Kreuz und Bauch, die wochenlang anhielten und so stark waren, daß die Kranke laut stöhnte und sogar schrie, sehr an die lanzinierenden Schmerzen (Krisen) der Tabes erinnern. Es ist schwerlich anzunehmen, daß die Schutzimpfungen Schuld an diesen Schädigungen, welche mit völligem Idiotismus und Tod endeten, tragen konnten, um so weniger, als im ganzen nur 6 Injektionen gemacht worden waren.

Müller weist noch auf die große Aehnlichkeit zwischen den antirabischen Lähmungen und der Poliomyelitis acuta hin, die in Form der aufsteigenden Landryschen Paralyse verläuft. Dabei aber betont Müller, daß man diese Krankheiten nicht verwechseln kann, da bei der Poliomyelitis acuta im Gegensatz zu antirabischen Lähmungen in der Regel dauernde Beschädigungen der vorderen Hörner bleiben und da außerdem bei der Poliomyelitis mit aufsteigenden Lähmungen der letale Ausgang charakteristisch sein soll, dagegen sollen die antirabischen Lähmungen eine außerordentlich günstige Prognose haben. Daß aber die antirabischen Paralysen keinen so günstigen Ausfall haben, sieht man schon daraus, daß bei Pelser auf ca. 200 Lähmungen 26 Todesfälle angegeben sind. Davon fallen 22 auf die Paralysis ascendens, bei welcher die Mortalität überhaupt 50 Proz. ausmacht. Andererseits gibt auch Poliomyelitis acuta bei weitem kein so hoffnungsloses Bild. Wickman gibt auf Grund seines Materials eine Sterblichkeit von 42,3 Proz. an, Mc. Nalty sogar nur 10 bis 25 Proz. und meint, daß dies noch geringer sein muß, da die leichten

Fälle nicht bemerkt werden. So wurde nach Mc. Nalty in New York 1907 eine ganze Epidemie von Poliomyelitis übersehen und nur die nachfolgende vergrößerte Anzahl der Patienten bei den Neurologen lenkte deren Aufmerksamkeit darauf. In England gibt es Städte, wo Poliomyelitis endemisch ist und doch nur wenige davon etwas wissen. Graef betont, daß es abortive und latente Formen der Poliomyelitis gibt, die unbemerkt vergehen, dabei aber eine große Rolle bei der Verbreitung dieser Krankheit spielen. Nach Landry, Oppenheim u. a. ist es eine Seltenheit, wenn die Paralysis ascendens in Heilung übergeht, kaum aber erschien ein Artikel von Horwitz über einen solchen Fall (nach Grippe), als in derselben Zeitschrift in kürzester Zeit 2 weitere Mitteilungen von Donath und Lewinson folgten (beide Fälle nach Malaria). Würden diese Lähmungen mit antirabischen Impfungen zusammenfallen, so würde man sie jedenfalls letzteren zuschreiben, da das klinische Bild so sehr an die antirabischen Paralysen nach dem Typus Landry erinnerte.

Wir wissen, wie vorsichtig man in der Frage, ob Pockenimpfungen Gehirnerscheinungen verursachen können, sich ausspricht (Lucksch, Sobernheim, Paschen), obwohl doch die Vakzination stets von bedeutenden lokalen und allgemeinen Reaktionen begleitet ist. Es frägt sich nun, weshalb man die Möglichkeit des zeitlichen Zusammenfallens der antirabischen Schutzimpfungen mit Lähmungen irgendeiner anderen Natur so energisch verneint, obwohl doch die antirabischen Schutzimpfungen in der Regel ziemlich selten eine allgemeine Reaktion auslösen.

Uebrigens kann das zeitliche Zusammentreffen der interkurrenten Lähmungen mit antirabischen Impfungen, wie überhaupt jeder Zufall, nur äußerst selten sein, so daß jedenfalls nur der geringste Teil der antirabischen Lähmungen dadurch erklärt werden könnte.

Was die Lähmungen nach Impfung mit bakteriell verunreinigten Impfstoffen anbelangt, so kann man auch diese Möglichkeit nicht verneinen. Daß in der angewendeten antirabischen Emulsion sich wirklich oft verschiedene Bakterien befinden, haben Kühne, Lubinsky, Remlinger, Herrmann u. a. gezeigt. Jedoch, wenn Lähmungen durch diese Verunreinigungen ausgelöst sein würden, müßte man die gleichzeitige Erkrankung vieler Personen, die mit demselben Impfstoff immunisiert wurden, erwarten. Erinnern wir uns an den Fall von Verunreinigung des Impfstoffes in Warschau, bei dem von 40 Geimpften auf einmal 22 Personen erkrankten (davon starben 4). Eine solche massenhafte Erkrankung müßten auch die durch Verunreinigung des Impfmaterials verursachten Lähmungen geben. Im Gegenteil aber wurde stets betont, daß, wenn der eine oder andere Geimpfte gelähmt wurde, alle anderen mit demselben Impfstoffe Geimpfte dabei gesund blieben (nach Pelser Nr. 14, 32, 47, 50, 60, 76, 78, 79, 128).

Man muß deshalb annehmen, daß bis jetzt kein einziger durch die Verunreinigung des Impfstoffes entstandener Lähmungsfall bewiesen ist.

Welche Methode der Schutzimpfungen ist zu empfehlen?

Im Zusammenhang mit den antirabischen Lähmungen wurde so manchesmal die Frage aufgeworfen, welche Methode der Schutz-

impfungen allgemein eingeführt werden sollte. Auf Grund der Statistik versuchte man festzustellen, welche Methode besser ist. Man muß jedoch bemerken, daß bis jetzt die statistischen Angaben in dieser Beziehung sehr schwach ausgenützt worden sind, und man kann sich deshalb auf sie in einer so ernsten Angelegenheit nicht ohne weiteres stützen. Außerdem bleiben viele Lähmungen, wie etliche Autoren angeben, überhaupt unbemerkt; über viele Lähmungen wird nicht berichtet, ein Teil derselben ist von verschiedenen Instituten veröffentlicht worden, ist aber in die Sammelberichte von Simon oder Pelser nicht eingereiht worden. Es genügt, z. B., auf die unlängst erschienenen Arbeiten von Koritschoner und Schweinburg oder van Genderen zu verweisen, um zu zeigen, welche Ueberraschungen man noch erwarten kann, wenn man auch von allen anderen Instituten genaue Berichte erhalten wird.

Zuerst hat Remlinger 1905 alle ihm bekannten Fälle von antirabischen Lähmungen (im Ganzen 41) veröffentlicht. Berechnen davon kann man nur 27 Lähmungen auf 108712 Geimpfte oder 1:4027, d. h. 0,25 Prom.

Simon gibt 1913 auf 211779 Geimpfte 100 Lähmungen an oder 1:2117, d. h. 0,48 Prom., man muß aber sagen, daß von den vielen russischen Städten, in denen Pasteurstationen waren, in der Statistik nur Petersburg, Charkow, Wilna und Kasan erwähnt wurden, und auch betreffs dieser Stellen sind die Angaben bei weitem nicht vollständig. Es fehlen aber ganz die Angaben über so große Stationen wie die in Moskau, Odessa, Warschau, Kiew, Samara usw. und doch wäre es genügend, sagen wir, die Zahl der Geimpften in Samara von 1886 bis 1914, d. i. 27326 ohne Lähmungsfälle, oder in Warschau von 1886 bis 1908, 18660 ohne Lähmungsfälle während dieser Zeit oder in Odessa von 1886—1922, 77950 mit 4 Lähmungen anzugeben, um zu zeigen, wie große Differenzen man erhalten könnte, falls man genaue Berichte über diese Frage erhalten würde.

Auf Grund dieser mangelhaften statistischen Angaben rechnete Simon aus, wie oft Lähmungen nach der einen oder anderen Methode vorkommen, es ist deshalb leicht verständlich, daß er zu unrichtigen Schlußfolgerungen kommen mußte. So werden für die modifizierte Methode von Pasteur 16 Lähmungen auf 8657 Geimpfte oder 1:541 angegeben.

Es genügt, die in der Arbeit von Simon für Petersburg und Charkow angegebenen Zahlen mit der entsprechenden Anzahl von Lähmungen zu berücksichtigen, da daselbst ebenfalls die modifizierte Methode Pasteurs angewendet wurde, man erhält alsdann nicht 1:541, sondern 1:1838. Wenn man noch die Zahlen von Odessa (4:77950) und Warschau von 1893—1908 (0:16402), als daselbst schon 1tägiges Mark angewendet wurde, hinzufügt, so bekommen wir anstatt 1:541 schon 1:5002, also einen 10fach größeren Unterschied.

Wie große Fehler man macht, wenn nicht alle Lähmungsfälle bekannt sind, kann man besonders klar an der Methode Högyes beurteilen. In der Statistik von Simon ist angegeben, daß nach dieser Methode die Paralysen am seltensten sind, nämlich 1:17139. Wenn wir die Arbeit von van Genderen in Betracht ziehen, so verändert sich die Berechnung gründlich zu Ungunsten dieser Methode. In Weltevreden waren auf 3352 nach der Methode Högyes geimpfte Europäer 9 Läh-

mungsfälle oder 1:372; es kamen also Lähmungen viel öfter vor als bei irgendeiner anderen Methode nach den Angaben Simons. Da an diesem Institut während dieser Zeit nach dieser Methode doppelt so viel Insulaner geimpft, aber keine Lähmungen bei ihnen beobachtet wurden, so erhält man 9 Lähmungen auf 9944 Geimpfte, also 1:1105. Auch wenn man diese Zahlen von van Genderen zu den von Simon angegebenen hinzufügt, so erhält man auf 58421 Geimpfte 11 Lähmungen, also 1:5340, d. h. immerhin um $3^1/_2$mal so viel als bei Simon. Somit sind die Lähmungen nach der Methode Högyes im allgemeinen ebenso oft, wie wir sie nach der modifizierten Methode Pasteurs erhalten haben.

Wenn man in den Berichten, in denen die Methode von Högyes angewendet wird, gut nachsieht, so wird man wahrscheinlich nicht wenig solcher Lähmungen auffinden.

So wird z. B. im Tomsker Bakteriolog. Institut die Methode von Högyes angewandt. Im Berichte desselben für 1924, wo auf 413 Geimpfte 4 Todesfälle angegeben werden, ist folgender Fall beschrieben worden: „Veterinärfeldscher Iwanow N. J., 32 Jahre alt, besichtigte am 25. März den Rachen eines kranken Hundes, welcher sich als tollwutkrank erwies. Am 7. April, also 1 Woche später, kam Iwanow ins Institut und ließ sich impfen. Es wurde die übliche Kur verordnet, welche am 16. April endete. Bald nach Beendigung der Impfungen wurde etwas Anormales seitens der Psyche beobachtet: gedrückte Stimmung, leichte Reizbarkeit, Schwächezustand. Am 4. Mai fuhr J. in dienstlichen Angelegenheiten nach Petropawlosk in äußerst gedrückter Stimmung. Er deutete darauf hin, daß er bald sterben würde. Am 7. Mai kam er nach Petropawlowsk, war so schwach, daß er einen kleinen Bagagekorb nicht aus dem Wagen hinaustragen konnte. Am 14. Mai traten starke Kreuz- und Beinschmerzen auf, am 15. Mai Lähmungen der Beine, Retentio urinae. Wiederholte oft, daß er bald sterben müsse, und bat, ihn mit Arekolin zu vergiften. Temperatur 40,4° C. 16. Mai Lähmungen der Arme und der Zunge. 17. Mai Bewußtlosigkeit, Erbrechen, Temperatur 40,7° C. 18. Mai morgens um 7 Uhr Exitus. Aerophobie und Hydrophobie wurde nicht beobachtet. In der Anamnesis ist Alkoholismus. Kam auch zu den Schutzimpfungen in betrunkenem Zustande."

Wir sehen hier einen analogen Fall zu den von Hübner und Pelser beschriebenen psychischen Formen der Erkrankungen nach Schutzimpfungen, die aber mit Lähmungen und Tod des Geimpften endete. Daß es sich um eine antirabische Lähmung gehandelt hat, wird in dem Berichte nicht erwähnt; dieser Fall konnte somit als gewöhnlicher Lyssatodesfall betrachtet werden und der Beachtung entgehen.

Was die Statistik anbetrifft, so gibt Simon selber zu, daß seine Zahlen nicht genau sind, und macht den Vorschlag, zu diesem Zweck das statistische Material zu bearbeiten, das man auf dem nächsten Internationalen Kongreß der Pasteurinstitute, welcher sehr nötig wäre, sammeln könnte. Auf Grund dieser ungenauen Daten werden aber in letzter Zeit öfters Stimmen erhoben über den Vorzug der Methode Högyes vor den anderen Methoden und daß es erwünscht wäre, überall auf diese Methode überzugehen.

In solchen Fällen wird gewöhnlich gar nicht auf die übrigen Vorzüge oder Nachteile der einen oder anderen Methode hingewiesen, obwohl man doch beim Vergleiche derselben nicht nur über die Anzahl der Lähmungen, sondern auch unbedingt über die Qualität derselben und hauptsächlich noch über die Sterblichkeit bei den Impfungen nach verschiedenen Methoden urteilen sollte. Wie kann man, z. B. alle 20 Lähmungserscheinungen von Kozewalow, die sämtlich nach

1—2 Tagen völlig zurückgingen, auch nur mit dem einen Lähmungsfall ebenfalls von Kozewalow, der letal verlief, vergleichen.

Um auch nur einigermaßen über die Mortalität an verschiedenen Instituten zu urteilen, lasse ich die von mir hergestellte Tab. Nr. VII

Tabelle VII.
Mortalität in verschiedenen Pasteurinstituten.

Städte	Jahre	Gebissene	Gestorben			Mortalität	
			während der Impfung od. währ. 15 Tag. nach Abschluß ders.	später als 15 Tage n. Abschluß der Impfung	im ganzen	absolute	reduzierte
Algier	1886—1905	9 589	—	78	—	—	0,81
Barcelona	—	15 000	?	?	?	?	0,2—0,4
Berlin	1898—1904	2 253	9	12	21	0,93	0,53
	1905—1917	4 191	14	14	28	0,67	0,33
	1917—1923	4 399	14	6	20	0,45	0,14
	1898—1923	10 843	37	32	69	0,64	0,3
Budapest	1890—1905	32 508	—	126	—	—	0,46
Bukarest	1888—1905	9 250	—	11	—	—	0,13
Charkow	1888—1921	56 912	238	270	508	0,89	0,47
Jassy	1891—1905	3 038	—	5	—	—	0,16
Kolumbia (Ohio)	bis Sept. 1922	1 540	1	0	1	0,06	0
Konstantinopel	1901—1908	6 808	80	19	99	1,45	0,27
Krakau	1893—1904	3 141	9	24	33	1,05	0,77
	1903—1905	1 424	5	0	5	0,35	0
	1893—1905	4 565	14	24	38	0,81	0,53
Lissabon	1893—1905	8 844	—	44	—	—	0,5
Lyon	1898—1906	6 789	—	12	—	—	0,18
Madrid	1902—1911	3 000	7	6	13	0,43	0,2
Neapel	1886—1908	8 446	—	45	—	—	0,53
New York	1890—1901	1 608	—	10	—	—	0,62
Odessa	1892—1907	25 325	83	11	94	0,37	0,04
	1908—1914	19 078	30	6	36	0,19	0,03
	1892—1914	44 403	113	17	130	0,29	0,038
Paris	1886—1911	32 387	—	128	—	—	0,4
Samara	1886—1914	24 445	141	130	271	1,18	0,53
Sassari	1900—1908	1 053	—	2	—	—	0,69
Warschau	1886—1908	18 660	74	17	91	0,5	0,4
Wien	1913—1914	1 368	6	10	16	1,17	0,73
	1915—1918	4 850	13	48	61	1,26	0,99
	1919—1921	1 119	7	7	14	1,25	0,62
	1922—1923	1 563	—	3	3	0,19	0,19
	1913—1923	8 900	26	68	94	1,05	0,76
		308 588					

folgen. Sie ist bei weitem nicht komplett, umfaßt jedoch über 300 000 Geimpfte und kann somit wenigstens teilweise zum Vergleiche dienen (eine vollständige Liste müßte auf internationalem Wege hergestellt werden). Vergleichen wir z. B. die Resultate des Instituts Budapest,

wo die Methode Högyes angewendet wird, und in Odessa, wo seit jeher die modifizierte Methode Pasteurs gebraucht wird. In Budapest waren von 1890—1905 auf 32508 Gebissene 126 Todesfälle nach Beendigung der Impfung, d. h. 0,46 Proz. der reduzierten Mortalität (zit. nach Babes). In Odessa kamen von 1892—1914, als die Impfung in schweren Fällen 28—30 Tage dauerte und 1tägiges Mark vielmals eingeschaltet wurde, auf 44403 Geimpfte, vom 15. Tage nach Beendigung der Impfungen an gerechnet, nur 17 Todesfälle, also nur 0,038 Proz. der reduzierten Mortalität, d. h. beinahe um 12mal weniger als bei Högyes. Ueberhaupt machte sogar die allgemeine Sterblichkeit in Odessa bei dieser Anzahl der Geimpften nur 0,29 Proz. aus (130 Todesfälle).

Hat nun nach allem, was hier gesagt ist, der Umstand irgendeinen Wert, daß in Budapest 2 und in Odessa 4 Lähmungsfälle vorkamen?

Die ausschließlich günstigen Resultate an der Odessaer Station an einem enormen Materiale, was also jedenfalls nicht als Zufall betrachtet werden kann, im Vergleiche zu den Resultaten in den meisten der anderen Institute erkläre ich mir damit, daß, während in Odessa bei oberflächlichen Verletzungen die Impfungen nur 12—20 Tage dauerten, bei schweren Bissen dort schon von 1892 an die Impfung, wie schon gesagt, 28—30 Tage dauerte, in den meisten anderen Instituten man die Impfung dagegen stets zu kürzen versuchte, was bestimmt auf die Sterblichkeit keinen günstigen Einfluß ausübte. Daß die Dauer der Immunisation eine sehr große Bedeutung hat, konnte ich mich wiederholt während meiner Versuche überzeugen, wie in meinen Arbeiten: „Immunisation gegen Tollwut mit verschiedenen Vakzinen", „Inaktivierte antirabische Vakzine 58—60" und in entsprechenden russischen Artikeln berichtet worden ist, wo unter anderem gesagt wird, daß man, um eine dauerhafte Immunisation zu erhalten, nicht weniger als 24—28 Tage (freilich in schweren Fällen) impfen sollte.

Meines Erachtens wirkt jede Kürzung der Impfung nach beliebiger Methode sehr schädlich auf die Resultate der Impfungen, indem dabei die Anzahl der Todesfälle bedeutend wächst; es müßte deshalb die Dauer der Behandlungsweise in verschiedenen Instituten in schweren Fällen entsprechend verlängert werden.

Während der obenerwähnten Versuche und auch in den noch nicht veröffentlichten (mit Kontrolltieren waren es ca. 175 Versuchstiere), konnte ich mich überzeugen, daß die $^1/_2$ Std. auf 58—60° erwärmte Vakzine — $^1/_2$ Proz. Phenol im Laufe von einigen Monaten nach der Herstellung nicht geringere Immunisationskraft besitzt als jede andere antirabische Emulsion. Da man aus meinen Versuchen ersehen kann, daß das fixe Virus bei weitem nicht als harmlos aufzufassen ist und manchmal vielleicht sehr gefährlich werden kann, umsomehr da ganz unerwartet Veränderungen der biologischen Eigenschaften an den Tag treten können, und da nach meiner inaktivierten Vakzine „58—60" auch die anaphylaktischen Erscheinungen, welche auch auf die Häufigkeit der antirabischen Lähmungen einen Einfluß haben, leichter verlaufen, so muß man derselben oder überhaupt der abgetöteten Vakzine meines Erachtens den Vorzug vor der ex tempore hergestellten Vakzine geben, umsomehr da erstere äußerst bequem zum Versand und zum Gebrauch in jedem Ambulatorium (in Städten und Dörfern, wo nur irgend Aerzte vorhanden sind) ist. Man muß diese Vakzine wie die Cholera- oder Di-

vakzine nur vor der Impfung etwas schütteln, sie ist dann fertig zum Gebrauche.

Daß diese Vakzine auch bei Menschen ein glänzendes Resultat gezeitigt hat, ist in meinem Artikel: „Inaktivierte konservierte antirabische Vakzine 58—60" angegeben. Es wurden 683 Personen damit geimpft und ist kein einziger Todesfall und auch keine Lähmung außer dem oben beschriebenen Fall psychogener Natur beobachtet worden. Da dabei 1proz. Vakzine angewandt wurde, so ist sogar bei den tiefsten Wunden während der 28tägigen Impfung nur 0,84 g Nervensubstanz einverleibt worden (zu 3 ccm — 84 ccm der Emulsion), dagegen wurde z. B. in Wien in 14 Tagen nach den Schemata I und II — 1,17 bis 1,95 g und nach dem Schema III in 21 Tagen 2,93 g, also $3^1/_2$mal mehr als nach meiner Methode injiziert. Bei gefährlichen Wunden verwendet man dort nun die Methode von Alivisatos (mit Aether bearbeitetes Hirn), bei welcher 6,25 g, also beinahe um 8mal mehr, als nach meiner Methode, eingespritzt wird. Bei der Methode Fermi wird eine 5proz. Emulsion gebraucht, somit wird ca. 5mal soviel injiziert als nach meiner Methode. Bei leichten Verletzungen wurde mit der Vakzine „58—60" nur im ganzen 0,2—0,25 g der Hirnsubstanz appliziert, also nicht mehr als nach der Methode Högyes (0,2375 nach Koritschoner und Schweinburg und 0,092—0,605 g nach van Genderen). Man könnte auch auf Wunsch, besonders bei leichten Verletzungen, eine $^1/_2$proz. Vakzine gebrauchen, da auch sie, wie aus meinen Versuchen zu ersehen ist, ausgezeichnete Resultate gegeben hat. In diesem Falle würde man somit das zu injizierende Quantum auf die Hälfte vermindern. Da die Hirnsubstanz, wie wir gesehen haben, an und für sich Komplikationen verursachen kann, so ist es klar, daß man bei den Impfungen so wenig von dieser Substanz als nur irgend möglich injizieren muß, jedoch mit solcher Berechnung, daß das Immunisationsvermögen darunter nicht leidet, was, wie jede Abänderung in der Behandlungsweise, zuerst durch Experimente festgestellt und dann erst auf Menschen übertragen werden sollte.

Man findet in der Literatur so manchesmal die Angabe, daß die Immunität gegen Tollwut nur durch den lebenden Erreger erreicht werden kann, weshalb etliche Institute sogar die Vakzine Fermi nur im Laufe der ersten Woche nach der Herstellung, wenn sie noch etwas virulent ist, zum Gebrauch empfehlen. Neufeld betont mit Recht, daß die Frage, was die Immunisation mit lebendem oder toten Erreger im allgemeinen geben kann, ohne vorgefaßte Meinungen in jedem einzelnen Falle besonders geprüft werden muß. Die vielfachen positiven Resultate mit meiner abgetöteten Vakzine haben es glänzend bei der Immunisation gegen Lyssa bewiesen.

Es würde erwünscht sein, die Versuche mit abgetöteter Vakzine in verschiedenen Instituten der Nachprüfung zu unterwerfen, um nach positivem Ausfall derselben auf die Immunisation gegen Lyssa mit abgetötetem Virus überzugehen.

Zur besseren Bekämpfung der Tollwut müßte man wie in Japan und Amerika überall auf die prophylaktischen Impfungen der Hunde mit abgetöteter Vakzine übergehen, nur müßte man dieselben unbedingt etliche Male impfen, da eine einmalige Impfung, ob kleine oder große Dosen angewandt werden, wie meine Versuche gezeigt haben, nur eine unbedeutende Immunität hervorruft.

Schlußfolgerungen.

Es ist als bewiesen anzusehen, daß Lähmungen nach den Schutzimpfungen zuweilen psychogener Natur sind.

Lähmungen nach den Impfungen können ausnahmsweise ganz anderer Herkunft sein und nur zufällig zeitlich mit den antirabischen Impfungen zusammenfallen. Lähmungen können vielleicht auch durch Verunreinigung des Impfstoffes hervorgerufen werden, jedoch hat man bis jetzt solche wahrscheinlich noch nicht beobachtet.

Die vielfachen Lähmungen in den letzten Jahren in Deutschland, Oesterreich usw. können wahrscheinlich durch die abgeschwächte Widerstandsfähigkeit des Organismus während der Kriegsjahre und auch später infolge der veränderten Lebensverhältnisse erklärt werden.

Verschiedene Nationen scheinen nicht gleichartig auf Tollwutschutzimpfungen zu reagieren. Zur Aufklärung dieser Frage müßte man in der Statistik stets die Nationalität der Gelähmten angeben.

Die bisherige Statistik betreffs der antirabischen Lähmungen ist äußerst ungenau und wenig bearbeitet, es sind somit die Angaben über die Häufigkeit der Paralysen im allgemeinen und über die Abhängigkeit der Lähmungen, von der Intensität der Behandlungsweise oder überhaupt von der einen oder anderen Methode der Schutzimpfungen wenig begründet.

Nach der Dillutionsmethode von Högyes scheinen die Lähmungen im Durchschnitt nicht seltener zu sein als nach anderen Methoden.

Was die Todesfälle anbetrifft, so waren dieselben nach der Methode Högyes (126 auf 32508 Gebissene) ungefähr um 12mal mehr als nach der intensiven Methode Pasteurs in Odessa (17 auf 44403 Geimpfte).

Die sehr günstigen Resultate der Odessaer Pasteurstation im Vergleich zu den Resultaten der meisten anderen Institute sind dadurch bedingt, daß in Odessa schon von 1892 der Kursus der Schutzimpfung bei schweren Verletzungen bis 28—30 Tage dauerte, während in den meisten anderen Instituten man im Gegenteil bemüht war, die Dauer der Schutzimpfungen abzukürzen, was zweifellos eine größere Sterblichkeit zur Folge hatte. Meine Versuche zeigten, daß eine langdauernde Immunisation von 24—30 Tagen bessere Resultate gibt als ein kürzerer Kursus, der bei schweren Verletzungen unabhängig von der angewandten Methode als ungenügend betrachtet werden muß.

Die inaktivierte Vakzine „58—60", d. h. eine während $^1/_2$ Std. auf 58—60° C erwärmte Vakzine, der $^1/_2$ Proz. Phenol beigefügt wird, hat ein Immunisationsvermögen, das jedenfalls nicht geringer ist als bei der ex tempore hergestellten Emulsion. Diese Vakzine behält das Immunisationsvermögen unabgeschwächt während etlicher Monate und ist

äußerst bequem zum Versande und zum Gebrauch überall, wo nur ein Arzt vorhanden ist.

Während einer für Schwerverletzte 28 Tage dauernden Impfung wurde subkutan 0,84 g der Hirnsubstanz injiziert, dagegen wurde in Wien in 14—21 Tagen 1,17—2,93 g und jetzt bei Schwerverletzten nach der Methode Alivisatos 6,2375 g, d. h. um ca. 8mal mehr injiziert. Bei der Methode Fermi wird ca. 5mal soviel Hirnsubstanz als bei meiner Methode injiziert.

Bei leichten Verletzungen wurde im Ganzen 0,2—0,25 g des Hirnes, also nicht mehr als nach der Methode Högyes, injiziert. Man kann auch, besonders bei schwachen Verletzungen, das Quantum auf die Hälfte vermindern, da auch eine $^1/_2$proz. Vakzine „58—60" bei der Immunisation der Versuchstiere sehr gute Dienste geleistet hat. Dies ist wichtig, da die Hirnsubstanz an und für sich Komplikationen auslösen kann, weshalb so wenig davon als nur irgend möglich appliziert werden sollte.

Das lebende fixe Virus der Tollwut darf man nicht als gefahrlos für den Menschen, selbst bei subkutaner Applikation halten, umsomehr da man niemals die stets zu erwartende Veränderung der biologischen Eigenschaften desselben veraussagen kann. Da die durch schwaches Erwärmen abgetötete Vakzine (nicht aber das ausgetrocknete Mark) kein geringeres Immunisationsvermögen als das frische Virus fixe aufweist, so würde es meines Erachtens wünschenswert sein, meine Versuche noch zu prüfen und falls die Prüfung günstig ausfallen sollte, auf den Gebrauch abgetöteter Vakzine überzugehen.

Ergänzung. Nach Abschluß dieser Arbeit erhielt ich die kürzlich erschienene Arbeit von Boecker über Impflähmungen. Aus derselben ist zu ersehen, daß die Methode Högyes auch in Berlin schwere Impflähmungen gegeben hat und zwar 5:4063, d. h. 1:813, davon 3 mit tödlichem Verlaufe. Da auch in Weltevreden von 10 Lähmungen nach dieser Methode 4 tödlich verlaufen sind, so ist es klar, daß die Methode Högyes bei weitem nicht so harmlos und ideal ist, wie vielerseits angegeben wird. Dies beweist auch die neuliche Arbeit von Busson.

Literatur.

Akker, M., Ber. über d. Tätigkeit der Samaraer Pasteur Station für 1886—1914. [russisch]. — Aujeszky (zit. nach Koritschoner u. Schweinburg). — Bauer (zit nach Papamarku). — Babes V., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65; Bd. 69; Traité de la rage. 1912. — Bareggi (zit. nach Simon). — Blasi et Russo Travali, Ann. Inst. Past. T. 8. 1894. — Boecker, E., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 106. H. 1. — Bordoni Uffreduzzi Ann. de l'Inst. Past. 1895. — Calabrese Ibid. 1896. — Chaillond (zit. nach Remlinger). — Chemeljewsky i Skschiwan, Woprossi Nervno-psychitscheskoj med. T. 7. — Collier, W., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. No. 4. — Diatroptow, P., Ber. über d. Tätigkeit der Odessaer Bakteriol. Station für 1892—1907 [russisch]. — Donath, J., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 1160. — Dawidowski u. Dwischkow, Journ. f. Mikrobiol., Pathol. u. Inf. Bd. 2. H. 4 (russisch). — Eich-

horn, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 79. Nr. 19/20. — Fermi, Cl., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 43. — França, C., Ibid. Bd. 55, 57. — Frugoni u. Gargiano, Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 6. — Gadamer, J., Lehrb. d. chem. Toxikologie. 1924. — Gildemeister u. Herzberg, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. No. 3. — Goldschmidt Ann. Inst. Past. 1894. — Graef, W., Münch. med. Wochenschr. 1925. S. 55. — Heller u. Bertarelli (zit. nach Koritschoner u. Schweinburg). — Henneberg, Dtsch. med. Wochenschr. 1917. No. 10. — Herrmann, O., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94: S. 42, S. 201, S. 290 u. S. 296. — Ebenda. Bd. 95. S. 67. S. 69. S. 428. S. 429, S. 433. — Ebenda. Bd. 36: S. 131. — Wratschebnaja Gaseta. 1924. H. 19/20. [russisch]. — Prophylaktitscheskaja Medizina. 1924. No. 5—6 [russisch]. — Journ. d. Mikrob., Pathol. u. Inf. 1924. No. 3—4. Bd. 1 [russisch]. — Horwitz, E., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. No. 20. S. 826. — Högyes, A. (Lyssa 1897). — van den Hoven van Genderen, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1925. Bd. 105. H. 2. — Hübner A., Dtsch. med. Wochenschr. 1920. No. 5. — Jochmann, G., Veröffentlichungen aus dem Gebiete der Medizinalverwaltung. Berlin. 1914. — Knack, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1926. H. 1. — Koch, J., Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 64. 1909. — Bd. 67. 1910. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912. — Kolessnikow (zit. nach J. Koch). — Konradi, D., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. — Bd. 38. 1905. — Bd. 47. 1908. — Bd. 73. 1914. — Koritschoner u. Schweinburg, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther. Bd. 42. H. 3/4. — Kozewalow, S., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. — Charkowski medizinski Journal. 1910 [russisch]. — Prophylaktitscheskaja medizina. 1925. No. 5. [russisch]. — Krajuschkin, Archiv biologitscheskich nauk. 1890. [russisch]. — Krogh (zit. nach J. Koch). — Lange, B., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. No. 48. — Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 102 u. Bd. 103. — Lebell et Vesesco, Ann. de l'Inst. Past. 1895. p. 892. — Levaditi et Nicolau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 77. H. 3/4. — Lewinson, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 43. — Lubinsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. — Lucksch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. H. 5/6. — Marie, A., Compt. rend. de la soc. de biol. 1905. No. 1. — Bull. de l'Inst. Past. 1908. No. 16/17. — Marques, E., Biochemica e Terapia Sperimentale. Ann. III. Fasc. VIII. 1912. — Müller, E., Dtsch. Zeitschr. f. Nervenheilkunde. Bd. 34. S. 252. — Mac Nalty, A., The Lancet. 1925. Vol. 208. p. 532. — Negri-Luzzani, Ann. de l'Inst. Past. 1913. — Neufeld, F., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. No. 1. S. 7. u. No. 10. S. 387. — Nicolas, J., Soc. de biol. 1906. p. 625. — Obrastzow, W., Antirabitscheskie paralitschi i gipotesi ich proiszchoschdenija. 1912. [russisch]. — Palmirsky u. Karlowsky, Charkowski Medizinski journal. 1909. [russisch]. — Pampoukis, Ann. de l'Inst. Past. 1900. — Papamarku, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 86. H. 1. — Pelser, W., Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych. Bd. 22. H. 1/4. 1920. — Platonow, K., Hypnose Nautschnaja miszl. 1925. [russisch]. — Pokschischewsky, N., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 76. 1914. H. 3. — Proescher, New York med. Journ. 1909. — Puscariu, zit. nach Remlinger u. Simon. — Rabieaux, Soc. de Biol. 1903. — Rémlinger, P., Ann. de l'Inst. Past. 1905. p. 625. — Bull. de l'Inst. Past. 1923. — Rendu (nach Remlinger). — Roux et Nocard, Ann. de l'Inst. Past. 1890. p. 163. — Simon, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. H. 1. 1913. — Sterling, W., Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych. 1913. Bd. 17. H. 2/3. — Szekeli, zit. nach Jochmann. — Stiner (zit. nach Lucksch). — Thomson, O., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 80. H. 7/8. — Tomsker Bericht, Bakteriolog. Institut. 1924. — Vincent, Soc. de Biol. 1907. — Zaccaria (zit. nach Babes).

Nachdruck verboten.

Ueber die Appendicitis malarica.

[Aus der therapeutischen Hospitalklinik des Kubanschen Staatlichen Medizinischen Instituts.]

Von Dr. **G. S. Demjanow**[1]), Krasnodar.

Mit 1 Abbildung im Text.

Für wenige Krankheiten sind so viele Hypothesen zur Erklärung ihrer Aetiologie aufgestellt worden wie für die Appendicitis. Jede von ihnen hat ihre Anhänger und Gegner, keine jedoch allgemeine Anerkennung gefunden. Diese Tatsache berechtigt zur Annahme, daß es überhaupt keine einheitliche Ursache der Entzündung des Wurmfortsatzes gibt, sondern daß es vielmehr viele und wesensverschiedene gibt.

Alle diese Ursachen lassen sich in folgende Gruppen einteilen:

1. Ursachen lokaler Art, die im Wurmfortsatze selbst liegen, wie Kotsteine, Fremdkörper, Parasiten usw. — 2. Ursachen, die chronischen oder akuten Erkrankungen des Darms zugrunde liegen, wie Darm-, namentlich Dickdarmkatarrhe, typhöse, dysenterische, tuberkulöse, durch Cholera verursachte Affektion des Darms, wobei der Prozeß per continuitatem auf den Wurmfortsatz übergeht und entsprechende Veränderungen in ihm hervorruft. — 3. Allgemeine Infekte, welche die Appendicitis auf hämatogenem Wege herbeiführen.

Zur Nachprüfung der hämatogenen Theorie der Appendicitis wurden von Charin, Adrian, Josué, u. a. Versuche mit verschiedenen Mikroben angestellt, wie Typhusbazillen, Streptokokken, Staphylokokken, Diplokokken u. a., die in die Blutbahn eingeführt wurden. Dabei konnten einige Autoren entzündliche Veränderungen in den Follikeln der Schleimhaut des Wurmfortsatzes und in den Payerschen Plaques des unteren Endes des Dünndarmes und Ansiedlung von den Mikroben in der Schleimhaut des Appendix nachweisen. Adrian kommt zum Schluß, daß der Wurmfortsatz und der Rundsack beim Kaninchen die häufigste Prädilektionsstelle des ganzen Darms darstellt für die Entwicklung von Infektionskrankheiten auf hämatogenem Wege. Tripier und Paviot pflichten dieser Meinung bei und nehmen an, daß in vielen Fällen die gewöhnliche Appendicitis nur eine lokale Manifestation der allgemeinen septischen Infektion des Organismus sei. Mordownikoff kommt in seinen letzten Experimentalarbeiten von 1916 zu noch weitergehenden Schlußfolgerungen, indem er dem Wurmfortsatz eine blutreinigende Rolle zuschreibt. Die klinische Beobachtung spricht für das Vorkommen von Erkrankungen des Wurmfortsatzes bei verschiedensten allgemeinen Infektionskrankheiten. Nach Simonin wird dabei der Anpendix in etwa 3—6 Proz. der Fälle in Mitleidenschaft gezogen. Angel, Blos, Galagnier, Mirand u. a. beschreiben Fälle von Appendicitis bei Typhus, Scharlach, Masern, Diphtherie, Windpocken, Angina, Otitis, Nephritis, Rheumatismus, Lungenentzündung, Grippe u. a. Faisans hält die Grippe für die fast ausschließliche Ursache der Appendicitis, ohne jedoch dafür genügendes Beweismaterial

1) Vorgetragen in der Kubaner Phys.-med. Gesellschaft am 15. 9. 1924.

zu erbringen. Goluboff vermutet sogar eine Kontagiosität der Appendicitis auf Grund der von ihm beobachteten, in einem Zeitraum von 2—3 Tagen stattgefundenen Erkrankungen von drei, auf einer Schulbank sitzenden Schülern eines Internats. Galagnier spricht die Vermutung aus, daß die Appendicitis den Ausdruck eines allgemeinen Infektionszustandes des Organismus darstellt.

Daß auch die Malaria, wie jede andere allgemeine Infektionskrankheit Appendicitis hervorzurufen vermag, wird unseres Wissens nirgends in der Literatur erwähnt. Nur Wolf (1902) beschreibt Malariafälle, die eine Appendicitis vortäuschten, wobei die Malaria nicht charakteristisch verlief und Plasmodien im Blut nicht vorgefunden wurden. Bei Ziemann finden wir Hinweise darauf, daß die Malaria appendicitisähnliche Krankheitszustände oder solche, die bei Affektionen des Coecum vorkommen, hervorrufen kann.

Die letzte Malariaepidemie lieferte uns genügendes Beweismaterial, das mit Sicherheit das Vorkommen von Appendicitis in ursächlichem Zusammenhang mit der Malariainfektion dartut.

Als Beweis dienen folgende von mir beobachteten Fälle:

1) S. 28 Jahre, Angestellter. Erkrankte am 6. Februar 1924 plötzlich an heftigen Leibschmerzen rechts, die mit Bewußtlosigkeit, Brechreiz, hoher Temperatur einhergingen. Dieser Zustand hielt ungefähr 10 Std. an. Der nächste Tag verlief bei normaler Temperatur und gutem Wohlbefinden. Am folgenden Tag, dem 8. Februar, wiederholten sich dieselben Erscheinungen: Temperatur 39,5 °, heftige Leibschmerzen, Erbrechen, nach 10 Std. sank die Temperatur und die Schmerzen ließen nach. Bis dahin hatte er weder an Magendarmerkrankungen noch an Malaria gelitten. Die objektive Untersuchung ergab: Malarische Gesichtsfarbe bei befriedigendem Ernährungszustand. Lungen und Herz normal, der Leib während der Anfälle aufgetrieben, heftige Schmerzhaftigkeit in dem Mac Burneyschen Punkte bei Palpation und beim Beklopfen mit allen Fingern der Hand (auf dieses Sympton achte ich immer). Hyperästhesie der Haut und Spannung der Muskulatur in der schmerzhaften Gegend. Milz und Leber vergrößert und ragen unter dem Rippenbogen auf 1—1½ Finger hervor. Zunge belegt. Stuhlgang normal. Spezifisches Gewicht des Urins 1034, von sauerer Reaktion, Eiweiß + 0,033 Prom., Sediment ohne pathologischen Befund. Im Blute werden Tertianaplasmodien, Ringe und Schizonten nachgewiesen. Am 8. Februar wird Chininbehandlung eingeleitet. Die Temperatur steigt nicht mehr, Milz und Leber nehmen ab, im Mac Burneyschen Punkt besteht die Hyperästhesie der Haut, die Schmerzhaftigkeit und geringe Muskelspannung fort.

Klinische Diagnose: Appendicitis malarica acuta.

In diesem Falle haben wir es zweifellos mit einer Appendikularkolik zu tun, die mit dem Beginn des Fieberanfalls einsetzte und mit dem Ablauf des Malariaparoxysmus abklingt.

2) Tsch., 30 Jahre, stammt aus Saratow; im Kubangebiet seit 6 Jahren. Im April 1923 traten Malariaanfälle und zugleich Erbrechen und Schmerzen im rechten Unterleib auf, welche gegen das Ende des Anfalls abklangen. Im Sommer erneuter Malariaanfall mit Erbrechen und denselben Erscheinungen im Unterleib, die zugleich mit dem Anfall nachließen. Am 23. 11. wiederholte sich zum 3. Mal der Anfall mit denselben Darmerscheinungen bei 38 ° Temperatur. Diesmal dauerten jedoch die Schmerzen noch 24 Std. nach dem Abklingen des Anfalls fort. Die Untersuchung ergab: Befriedigender Ernährungszustand, Gesicht blaß, Malariakachexie. Brustorgane o. B. Leib mäßig aufgetrieben, der Mac Burneysche Punkt bei der Palpation und beim Beklopfen mit den Fingern schmerzhaft, Hautüberempfindlichkeit, Muskelspannung. Leber und Milz vergrößert. Zunge belegt. Der bisher normale Stuhl verhalten. Im Blute Tropicaringe im Verhältnis 1 : 20 Leukozyten. Unter der Wirkung der Chininbehandlung wiederholten sich die Anfälle der Malaria und Appendicitis nicht mehr.

Klinische Diagnose: Appendicitis catarrhalis malarica.

Hier liegt eine sichere Appendikularkolik vor, die 2mal für eins mit dem Malariaparoxismus abklang, das 3. Mal 24 Std. nach Ablauf der Malariaattake fortdauerte.

3) P., Ehefrau, 28. Jahre, Russin, leidet seit einigen Jahren an Appendicitis. 1923 erkrankte sie an Malaria, wobei die Malariaanfälle jedesmal von Appendicitisanfällen mit heftigen, sich über das ganze Abdomen erstreckenden Schmerzen in der Ileocoecalgegend, von Uebelkeit und Stuhldrang begleitet waren. Die Fäzes sind zuweilen schleimhaltig. Objektiver Befund am 16. 11. 1923: Ernährungszustand während des Anfalles befriedigend; Facies malarica. Brustorgane o. B. Leib mäßig aufgetrieben. in der Gegend des Appendix bei Palpation und beim Beklopfen mit den Fingern Schmerzen, Hautüberempfindlichkeit und Muskelspannung. Leber und Milz vergrößert und palpierbar. Im Blute Tropicaringe.

Die Chininbehandlung bringt die Malaria- wie auch die Appendicitisanfälle zum Stillstand. — Diagnose: Appendicitis catarrhalis chronica, rezidivierend unter dem Einfluß der Malaria.

Hier haben wir es zweifellos mit einer Exazerbation des Appendixprozesses unter dem Einfluß der Malariaparoxysmen, in der Form von appendizitischen Koliken, zu tun, die zugleich mit den Malariaanfällen entstehen und vergehen.

4) B., 20 Jahre, Russin, Lehrerin. Leidet seit 1914 an krampfartigen Anfällen in der Bauchgegend, die mit Uebelkeit, Erbrechen und Leibauftreibung einhergehen. Die Schmerzen ließen sonst rasch nach, aber im Jahre 1916 mußte sie nach einem schweren Anfall 1—$1^1/_2$ Monate das Bett hüten. Mai 1923 erkrankte sie an 2 Tage-Malaria, wobei zugleich mit den Paroxysmen krampfartige Schmerzen in der Blinddarmgegend, Uebelkeit und Erbrechen einsetzten. Die Schmerzen hielten gewöhnlich 3—4 Std. an, und hörten schon vor dem Ablauf des Paroxysmus auf, während das Erbrechen und die Uebelkeit erst gegen das Ende des Paroxysmus aufhörten. Der letzte Anfall ereignete sich vor einer Woche. Objektive Untersuchung am 20. 6. 1923 (kein Anfall): Schlechter Ernährungszustand, ausgesprochene Malariafarbe. Brustorgane o. B. Leib weich. In der Gegend des Coecum Schmerzhaftigkeit bei Palpation und beim Beklopfen mit den Fingern der rechten Hand. Hautüberempfindlichkeit und Muskelspannung. Bei der Palpation der vorderen Ileocoecalgegend fühlt sich ein schmerzhafter lymphatischer Strang an. Milz und Leber vergrößert und palpierbar. Im Blute Gameten der Tertiana. Diagnose: Appendicitis catarrhalis chronica, die sich unter dem Einfluß der Malariaanfälle in der Form von appendikulären Koliken verschlimmert.

5) B., 36 Jahre, verheiratet. Im Jahre 1921 erster Appendicitisanfall mit Leibschmerzen, Uebelkeit und Erbrechen. Die Erscheinungen gingen unter dem Einfluß von Opium zurück. August 1922 stellten sich Malariaanfälle ein, die sich im Laufe von $1^1/_2$ Monaten jeden zweiten Tag wiederholten und von den eben beschriebenen Leibschmerzen, Erbrechen und Durchfällen begleitet waren. Diese Erscheinungen klangen jedesmal mit dem Ablauf des Fieberanfalls ab. Im März 1923 Rückfall in Begleitung von Appendikularkoliken. Ins Krankenhaus zwecks Appendektomie eingeliefert. Im Blute Tertianaplasmodien gefunden. Mai 1924 erneuter Malariaanfall mit Appendikularerscheinungen. Am 29. August ereignete sich der letzte Anfall mit Appendikularkoliken. Wiederholte Untersuchungen während des Anfalls ergaben erhebliche Auftreibung des Leibes, scharfe Schmerzen im Mac Burneyschen Punkt, Hautüberempfindlichkeit und Muskelspannung. Die Milz war dauernd von fester Konsistenz. In den fieberfreien Intervallen traten keine Appendicitiserscheinungen auf, aber die Empfindlichkeit und die Hauthyperästhesie in der Gegend des Wurmfortsatzes halten bis zum heutigen Tag an. Diagnose: Appendicitis catarrhalis chronica, die sich unter dem Einfluß der Malariaanfälle in der Form von Koliken verschlimmert.

Hier wurde die Appendikularkolik bald nach ihrem ersten Auftreten von mir als solche festgestellt, bevor der Arzt des Ambulatoriums die Kranke der Klinik zur operativen Behandlung zuwies.

6) S., 35 Jahre, verheiratet. Am 18. 7. hatte sie einen Appendicitisanfall, mit heftigen Schmerzen im Abdomen und subfebriler Temperatur. Objektive Untersuchung: Starke Muskelspannung in der Blinddarmgegend. Schmerzen bei der Palpation und beim Beklopfen mit den Fingern. Hautüberempfindlichkeit, Abdomen aufgetrieben. Patientin lag 7 Tage im Bett. Am 23. 8. 1923 Appendicitisanfall, der leichter verlief als der erste. Pat. liegt 2 Tage im Bett. Am 7. 9. Malariaanfall mit Leibschmerzen. Chininbehandlung. Am 8. 3. neuer Anfall mit denselben Appendikularerscheinungen. Milz und Leber vergrößert. Bleibt 1 Tag im Bett. April 1924 der letzte Malariaanfall, wiederum mit den früheren Appendikularerscheinungen. Die Schmerzen in der Blinddarmgegend halten ununterbrochen an, weswegen sich Pat. sich am 2. 7. 1924 im Kubaner Landkrankenhaus einer Append-

ektomie unterzieht. Der Wurmfortsatz erwies sich mit dem Blinddarm verwachsen, verdickt und gedrillt, 14 Tage später erfolgten 2 neue Malariaanfälle, jedoch ohne Leibschmerzen. Diagnose: Appendicitis catarrhalis chronica, die sich während der Malariaanfälle verschlimmerte und zu Appendikularkoliken führte.

Hervorgehoben sei hier das völlige Verschwinden der Appendikularkoliken nach der Entfernung des Appendix und das Ausbleiben von Koliken bei den späteren 2 Malariaanfällen.

7) B., 18 Jahre, Eisenbahnangestellter. Seit 1913 wiederholen sich alljährlich im Frühjahr und Herbst Malariaanfälle, jeden 2. Tag während 1—$1^1/_2$ Monate auftretend. Im Mai 1924 wurden im Blute Tertianaparasiten gefunden. Im September erneuter Anfall. Am 12. 10. 1924 um 3 Uhr schwerer Anfall mit Schüttelfrost, Fieber und Schweiß. Am nächsten Morgen erneuter Anfall mit heftigen Leibschmerzen rechts, die in den ganzen Bauch und Rücken ausstrahlen. Uebelkeit ohne Erbrechen. Die Schmerzen nahmen jeden Tag zu, wurden unerträglich und hatten Schlaflosigkeit zur Folge. Am 17. 10. 1924 in die Klinik aufgenommen mit der Diagnose: akute Appendicitis. Die Untersuchung ergab: Brustorgane o. B. Leib aufgetrieben; in der Blinddarmgegend Muskelspannung, die Gegend des S. Romanum bei Beklopfung mit den Fingern und Palpation schmerzhaft, vor der Pars coecalis ilei ein Lymphstrang tastbar. Die Milz ist vergrößert. Im Blut Tropicagameten, 1:60. Unter der Chininbehandlung und örtlicher Wärmeapplikation stellte sich die Gesundheit des Pat. bald wieder her. Es handelt sich hier offensichtlich um eine Appendicitis, die sich sofort nach dem Malariaanfall entwickelte, wobei der infiltratenfreie Prozeß viel schwerer verlief, als die früheren und eine Woche anhielt.

Alle angeführten Fälle wurden konservativ behandelt, und nach dem Verschwinden der Malariaanfälle wiederholten sich die Appendicitisanfälle nicht mehr. Im Falle 6, wo der Appendix entfernt wurde, hatte ein erneuter Malariaanfall keinen Appendicitisanfall zur Folge. In allen Fällen beobachteten wir infiltrationsfreie Appendikularkoliken, welche zugleich mit dem Malariaanfall entstanden und vergingen, oder aber sofort nach dem Fieberparoxysmus auftraten und einige Tage lang anhielten. Von einem zufälligen Zusammentreffen beider Anfälle kann keine Rede sein, da die Abhängigkeit der Appendicitisanfälle von den Malariaanfällen klar zutage lag. In 3 Fällen fällt das erste Auftreten der Appendicitis mit dem Malariaanfall zusammen, in den anderen 4 Fällen sehen wir Rezidive früherer Appendicitiden unter dem Einfluß der Malariaanfälle.

Da alle diese Fälle mit einer Genesung endeten und kein operativer Eingriff à chaud angezeigt war, konnten die Appendices nicht untersucht werden. Deshalb stellten wir zur Klärung dieser Erscheinungen pathologisch-histologische Untersuchungen an an den Appendices des an Malaria gestorbenen Patienten D. an, gestorben 14. 11. 1923 an komatöser Tropenmalaria, und des Patienten G., gestorben an schwerer malarischer Anämie. Beim 1. wurden 1 Tag vor dem Tode Plasmodien im Blut gefunden, beim anderen verschwanden sie aus dem Peripherieblut 3 Tage vor dem Tod unter dem Einfluß von Chinin. Zu Lebzeiten wurden Appendikularkoliken nicht beobachtet. Die Obduktion zeigte keine Veränderung des Wurmfortsatzes und des Darms überhaupt. Mikroskopischer Befund (Prof. N. N. Nischibitzki): Am Appendix in beiden Fällen Hyperplasie des Lymphapparates, die Follikel 2—3mal vergrößert, die Submucosa bis zur Muskelschicht infiltriert. Diese ist an einigen Stellen durchbrochen, die Grenze zwischen Mucosa und Submucosa ist verwischt; Eosinophile in erheblicher Anzahl. Malariaparasiten wurden nicht vorgefunden. Im Appendix des an komatöser Malaria verstorbenen Patienten sind in den Kapillaren des Mucosa, Submucosa und Muscularis Thromben aus Malariapigment, wie aus der nachstehenden Abbildung zu ersehen ist, vorhanden.

In diesen beiden Fällen bietet der Appendix das Bild einer akuten follikulären Appendicitis. Die Vergrößerung des Lymphapparates ist als Erscheinung einer allgemeinen Malariainfektion anzusehen. Man kann sich das Auftreten der Appendikularkoliken während der Malariaanfälle einmal so denken, daß durch die Anschwellung der Follikel das Lumen verengt oder verpfropft werden kann. Der Appendix sucht sich vom dabei angehäuften Sekret durch Muskelspasmen zu befreien, was eben die Appendikularkoliken hervorruft (Obrastzow). Andererseits konnten die in den Gefäßen des Fortsatzes vorgefundenen Thromben Ursache der Appendicitis sein. Das würde die Hypothese von Van-Cotta, Meisel u. a., die der Thrombenbildung im Appendix eine bedeutende Rolle in der Appendicitisätiologie zuschreiben, bestätigen. Diese Autoren sind der Meinung, daß die Thrombose zur Blutstauung in den Appendixgefäßen führt, die tiefgehende Veränderungen der Wände und sogar Nekrose hevorruft, was die Virulenz der dortigen Bakterien erhöht und Entzündungsprozesse auslöst. In anderen Fällen können Entzündungsprozesse vom Dickdarm per continuitatem auf den Appendix übergreifen und in diesem Appendicitiserscheinungen nicht nur während, sondern auch nach Ablauf des Malariaanfalles hervorrufen. Alle diese Eventualitäten können in Erscheinung treten sowohl in Fällen, bei welchen vor der Malaria keine Entzündungsprozesse vorhanden waren, wie auch in solchen, wo ein alter Prozeß unter dem Einfluß der Malaria sich verschlimmert. Die Malaria spielt also sowohl beim Auftreten neuer wie auch bei Rückfällen alter Appendicitiden im Zusammenhang mit anderen Ursachen, wie anatomischen Defekten im Appendix u. a., eine dominierende Rolle. Deshalb dürfen diejenigen Appendicitiden, die erstmalig gleichzeitig mit einem Malariaanfall auftreten, als Malariaappendicitiden bezeichnet werden.

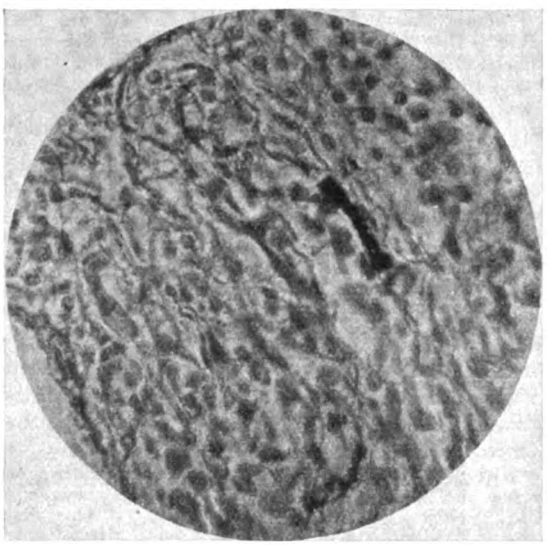


Fig. 1. Malariapigment. Mikrophotogramm von einem 15 μ-Schnitt. Zeiss 8, Ok. 4.

Zusammenfassung.

1) Der Appendix reagiert wie auf andere Infektionskrankheiten, so auch auf die Malaria mit Vergrößerung seines Lymphapparates. — 2) Die im Wurmfortsatz vorgefundenen Pigmentthromben können eventuell als Ursachen der Appendicitis angesprochen werden. — 3) Appendicitiserkrankungen im Anschluß an Malaria werden begünstigt durch

anatomische Besonderheiten und Veränderungen des Appendix, wie Verwachsungen, Achsendrehung und durch andere Erscheinungen, die Follikelanschwellung, Verengung des Lumens, Sekretstauung und Erhöhung der Virulenz der Parasiten bewirken .— 4) Das erklärt uns sowohl das Auftreten von Rezidiven bei chronischer Appendicitis im Zusammenhang mit der Malaria, wie auch von akuten Appendicitiden im Verfolg der Malariaanfälle. — 5) Die Appendicitis, die erstmalig durch die Malaria hervorgerufen wird, verdient als Appendicitis malarica bezeichnet zu werden. — 6) Die von uns beobachteten Malaria-Appendicitiden hatten einen katarrhalischen Charakter und dauerten einige Stunden oder einige Tage an. — 7) Die Malaria löst Rezidive latenter, chronischen Appendicitiden aus und verschlimmert ihren Verlauf. — 8) Mit der Entfernung des Appendix verschwinden auch die Appendikularkoliken während der Malariaparoxysmen.

Literatur.

1) Obrastzoff, W. P., Ueber Darm-, Magen- und Bauchfellentzündungen. Kiew. 1924. — 2) Rostofzeff, Die Lehre von der Perityphilitis. Petersburg 1909. — 3) Mordownikoff, Experimentelle Appendicitis hämatogenen Ursprungs. (Russky Wratsch. 1916. Nr. 21.) — 4) Sprengel, Appendicitis. Stuttgart 1912. — 5) Ziemann, H., Malaria und Schwarzwasserfieber. Leipzig 1924. S. 319. 240f.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Kaninchenbrustseuche und deren Prophylaxe.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institut in Wien (Dir.: Prof. R. Kraus).]

Von Dr. **I. Jacobsohn** und Dr. **O. Koref.**

I.

Von den bei Kaninchen auftretenden septikämischen Erkrankungen verdienen besondere Beobachtung diejenigen Formen, deren Eintrittspforte anscheinend die Luftwege sind und die für die Züchter wegen ihrer großen Infektiosität von der größten Bedeutung sind. In der Literatur liegen zahlreiche Angaben über diese seuchenhaft auftretende Infektionskrankheit vor.

Gelegentlich einer solchen im Institute aufgetretenen Kaninchenepidemie, hatten wir Gelegenheit, dieselbe zu verfolgen.

Die ersten Erkrankungen, die ungefähr 10 Tage dem eigentlichen Ausbruch der Epidemie vorangingen, zeichneten sich dadurch aus, daß die Tiere schwere klinische Krankheitserscheinungen darboten. Sie magerten sichtlich ab, wiesen starken Speichelfluß sowie eitrige Nasensekretion auf und verendeten zumeist nach 3—4 Tagen. Der Sektionsbefund war bei diesen Tieren auffallend arm an makroskopischen Veränderungen und beschränkte sich meistens auf Zeichen einer frischen Lobulärpneumonie.

Gehäuft traten die Fälle 10 Tage später auf und unterschieden sich von den oben erwähnten durch ihre Symptomlosigkeit. Die Kaninchen

wurden gewöhnlich tot aufgefunden, ohne daß vorher etwas auffälliges an ihnen festzustellen gewesen wäre. Wir büßten auf diese Weise etwa 40 Proz. unseres gesamten Tierbestandes ein, da sich alle Maßnahmen, wie Isolierung der mutmaßlich bereits infizierten Tiere, Reinigung und Desinfektion der Käfige, als vollkommen machtlos erwiesen.

Nach dem Abklingen der Epidemie, d. h. nach dem Aufhören dieser Massensterblichkeit, traten dann noch eine Zeit lang sporadische Todesfälle ein, die auf Grund des Sektionsbefundes die chronische Form der Erkrankung darzustellen schienen.

Ein auffallendes Bild bot der Sektionsbefund. Auch hier konnten wir 3erlei Typen unterscheiden, die anscheinend 3 verschiedene Formen des Krankheitsverlaufes repräsentierten. So sahen wir Tiere, die mit Ausnahme geringfügiger katarrhalisch-pneumonischer Zeichen nichts wesentliches aufwiesen, ein Befund, wie wir ihn bei den in der präepidemischen Zeit eingegangenen Tieren bemerkt hatten. Ein anderer Teil, und zwar der größte zeigte hingegen schwerste pleuritische und perikarditische Veränderungen mit Verwachsungen der beiden Pleurablätter einerseits und des Perikards mit dem Pleurum parietale andererseits und dicken, fibrinös eitrigen Belag auf diesem. Die Lungen sahen wir gewöhnlich von schweren Lobärpneumonien ergriffen, die manchmal auch von kleinen Abszeßbildungen begleitet waren, die sich meist bis in die Trachea erstreckten. Außerdem war in mehreren Fällen eine nur fibrinöse oder eitrig-fibrinöse Peritonitis in verschiedener Schwere festzustellen. Lymphdrüsen waren nicht verändert, Milz nicht vergrößert, auch die übrigen parenchymatösen Organe wiesen bis auf eine stärkere Brüchigkeit, d. h. parenchymatöse Degeneration der Leber, normale Verhältnisse auf.

Die schwersten, aber lokal beschränkten Veränderungen ließen die Formen des 3. Stadiums, der postepidemischen Zeit, erkennen. In diesen Fällen handelte es sich um Prozesse, die meistens in der Lunge zur Ausbildung bis haselnußgroßer Abszeßhöhlen geführt hatten, die bereits von der Umgebung demarkiert und von krümmeligem, eingedicktem Eiter erfüllt waren. Außerdem waren die schon bekannten pleuritischen und perikarditischen Auflagerungen vorhanden, die bereits stark eingedickt und fest haftend erschienen. In einem Falle sahen wir sogar die Subkutis der ganzen Bauchhaut und ausgehend von ihr die Unterhaut der hinteren Extremität eingenommen von einem ähnlichen schmierigen, nahezu käsig aussehenden, ganz eingedickten Eiter. Dieser weit ausgedehnte Herd kommunizierte an einer Stelle mit dem Peritoneum, welches ebenfalls schwerste Entzündungserscheinungen darbot. Für die Chronizität des Prozesses sprachen die zum Teil schon organisierten Verwachsungen.

Daß aber alle diese verschiedenartigen Formen der Ausdruck einer einzigen Erkrankung waren, wurde nicht nur durch die zeitlichen Verhältnisse bewiesen, d. h. dadurch, daß sie im Rahmen eines geschlossenen, wohl charakterisierten Erkrankungstypus auftraten, sondern einwandfrei durch den Nachweis von bestimmten Mikroorganismen, die sich in allen Fällen kulturell und färberisch ganz gleich verhielten.

Wir konnten stets aus dem Herzblut ebenso wie aus den eitrigen Auflagerungen des Peritoneums, Perikards, der Pleuren und auch aus den pneumonisch veränderten Lungen auf Agar typisch wachsende Bakterien züchten. Diese waren unbeweglich, färbten sich nicht nach Gram und konnten als kleinste, kokkenähnliche Stäbchen bezeichnet werden, die

keine regelmäßige Anordnung zeigten und in ihrer Größe etwas variierten. Vom Tierkörper direkt auf Agar verimpft, bildete die Kultur dieser Bakterien einen üppigen Rasen, der auf Schrägagar knapp über der Kondenswassergrenze aus etwas größeren weißlichen, weiter oben aus sehr kleinen, glasig durchscheinenden Kolonien bestand. Bei der 2. Uebertragung auf Agar erhielten wir, trotz reichlich überimpften Materials, nur noch 2—3 große Kolonien, die knapp an der Grenze des Kondenswassers wuchsen. Auf mit Pferdeserum hergestelltem Serumagar war das Wachstum etwas besser, ebenso wie auch auf Menschenblutagar, am üppigsten auf Kaninchenblutagar. Auffallend war an den Kolonien ein charakteristisches Trockenwerden, wie es schon von Glaue (1) beschrieben wurde. Diese Eigenschaft verhinderte die Herstellung einer homogenen Bakterienemulsion — selbst das Zerreiben in Reibschalen hatte nicht den geringsten Erfolg — ein Umstand, der, wie wir noch weiter unten erwähnen wollen, uns bei der Anstellung der Agglutination erheblich gestört hat.

Zur weiteren Charakteristik bezüglich des kulturellen Verhaltens gehört sein gutes Wachstum in gewöhnlicher, leicht alkalischer Bouillon (pH 7, 6), die nach 24 Std. diffus getrübt war. Nach 48 Std. trat Klärung der überstehenden Flüssigkeit ein, es hatte sich ein ziemlich fester Bodensatz gebildet, der nach dem Aufschütteln als zusammenhängendes Klümpchen in der Flüssigkeit flottierte. In den Bouillonkulturen der wiederholten Agarpassagen bildete sich an Stelle dieses Klümpchens ein krümmeliger Bodensatz bei nicht vollkommener Klärung der oberen Flüssigkeitsschichten. Auf Glyzerinkartoffel trat kein Wachstum ein, auf sauren Kartoffeln war selbst nach längerer Bebrütung das Wachstum makroskopisch nicht sichtbar, doch konnte man durch das Abstreifen des Nährbodens immerhin soviel Material gewinnen, um den Bazillus färberisch nachweisen zu können; er kam also doch zu einer, wenn auch ganz spärlichen Entwicklung. Im Stichkanal einer hohen Agarschicht beobachteten wir deutliches, besonders in den oberen Schichten bürstenförmiges Wachstum, ein dürftigeres im Stichkanal des Traubenzuckeragars. Kümmerlich war das Wachstum auch in Gelatine bei 22° nach 48 Std., wobei die Gelatine nicht verflüssigt wurde. In Milch wird keine Gerinnung hervorgerufen, in Lackmusmolke und Barsiekow-Traubenzucker eine ganz schwache Säuerung, schwache Indolbildung in Bouillon nach 24 Std., nach drei Tagen sehr starke.

II.

Kaninchenseuchen wurden schon des öfteren in den verschiedensten Laboratorien beobachtet und beschrieben. Auffallend dabei ist, daß die verschiedenen Beobachter trotz vieler Identitätszeichen immer wieder einige abweichende Merkmale — sei es im Krankheitsverlauf, im pathologisch-anatomischen Befund oder im Verhalten des Erregers — feststellten und damit ihre Meinung begründeten, daß im jeweiligen Fall eine spezielle Erkrankung vorläge. Hutyra und Marek (2) streben bereits in ihrem Handbuch bei Besprechung der häufigsten Kaninchenseptikämie eine Vereinfachung an, indem sie die Zusammengehörigkeit verschiedener Formen betonen, die bis jetzt als eigene Typen gegeneinander abgegrenzt worden waren. So glauben die genannten Autoren der Brustseuche der Kaninchen, die von R. Kraus (3) beschrieben wurde, und mit der die von Beck (4), Südmersen, Eberth und

Mandry u. a. geschilderten Erkrankungsformen zu identifizieren sind, der von Glaue (1) beobachteten Lungen- und Brustfellentzündung der Kaninchen angliedern zu dürfen. Eine Sonderstellung räumen sie der Pyämie der Kaninchen Koppanyis (5) ein, die ihrerseits manche Analogien mit den Beobachtungen Lavens (6) und Cominottis (7) aufweisen.

Wir aber wollen auf Grund unserer Erfahrungen um einen Schritt weitergehen und die Ansicht aussprechen, daß auch diese Gruppen nur verschiedene Erscheinungsformen ein und derselben Erkrankung darstellen und daß es die Einflüsse örtlicher und individueller Bedingungen sind, die eine Abweichung vom Typus herbeiführen könnten. Wir glauben uns durch die gerade an dieser Seuche gemachten Beobachtungen zu dieser Annahme berechtigt, da hier das Uebergehen der verschiedenen Formen ineinander gut zum Ausdruck kam und durch den stets gleichbleibenden bakteriologischen Befund als bewiesen gelten kann. Die Krankheitssymptome, die die Tiere in der Vorperiode boten, decken sich mit den von Kraus (3), Beck (4), Kurita (8), Volk (9) u. a. beobachteten, während die Symptomlosigkeit während der eigentlichen Seuchenzeit dem von Glaue aufgestellten Typus entspricht. Im pathologisch-anatomischen Befund gesellen sich zu den ziemlich unspezifischen Veränderungen der Luftwege und der großen serösen Blätter die mehr lokalisierten, abszedierenden Affektionen der postepidemischen Periode, die mehr an die von Laven beschriebene Art erinnert.

Ein weiterer Stützpunkt für unsere Anschauung ließe sich durch Anstellung der Agglutination der verschiedenen Erreger mit dem Serum erkrankter Tiere und umgekehrt, unseres Erregers mit dem Serum der an den anderen Seuchen leidenden gewinnen, da, wie im folgenden noch ausgeführt wird, der diagnostische Wert der Agglutination erwiesen ist. Wir selbst mußten leider infolge von Mangel an Material von diesen Versuchen Abstand nehmen. Der Erreger selbst wird in seinem morphologischen Verhalten eigentlich von allen Autoren gemäß dem Typus Kraus-Beck charakterisiert, die Abweichungen im kulturellen Verhalten, die hauptsächlich in Differenzen bezüglich des Wachstums auf Kartoffeln bestehen, könnten auf Variationen des Bazillus zurückzuführen sein. In der Pathogenität, Resistenz bzw. Empfindlichkeit gegen Austrocknung und in der mangelhaften Fähigkeit, sicher wirkende Toxine zu bilden, kann immerhin eine ziemlich weitgehende Uebereinstimmung vermerkt werden..

III.

Wir wollen nur noch ganz kurz auf eine von uns gemachte Beobachtung eingehen, die insofern von einigem Interesse ist, als sie vielleicht die Entstehungsweise solcher Epidemien aufklären könnte. Da wir zur Zeit der Epidemie im Benehmen der Tiere gar keine Anhaltspunkte für ihre eventuelle Erkrankung finden konnten, versuchten wir, ob wir durch den Nachweis eines höheren Agglutinationstiters im Serum der Kaninchen Schlüsse auf eine vorhandene Infektion ziehen könnten. Dabei konnten wir die auffallende Tatsache feststellen, daß das Serum von ca. 42 Proz. der untersuchten, anscheinend gesunden Tiere unseren Stamm noch in einer Verdünnung von 1:320 komplett agglutinierte, weitere 30 Proz. reagierten etwas schwächer. Vielleicht könnte der hohe Agglutinationstiter

Anhaltspunkte geben, um Kaninchen vor der Einstellung in den Bestand daraufhin zu prüfen um nur solche Tiere zu benützen, die normale Werte haben. Diese auffallend häufig zu verzeichnenden hohen Werte, die zur Zeit der Epidemie erzielt wurden, legen die Frage nahe, ob nicht etwa der hohe Agglutiningehalt außer infizierten Tieren möglicherweise Bazillenträger und -ausscheider anzeigen dürfte. Um diese Frage zu entscheiden, nahmen wir Agglutinationsproben bei Kaninchen von anderen Tierbeständen, wo keine Seuche geherrscht hat, vor und fanden, daß von den im selben Gebäude im benachbarten Institut untergebrachten Kaninchen nur ein verschwindend kleiner Anteil höhere Agglutinationstiter erreichte; das Serum der meisten von uns untersuchten Tiere enthielt überhaupt keine Agglutinine für unsere Stämme. Das gleiche Ergebnis gewannen wir durch die Stichproben, die wir an Kaninchen aus 2 anderen, entfernt gelegenen Instituten vornahmen. (Es war bei Anstellung der Agglutination darauf zu achten, daß die schon früher erwähnte Tendenz der Bakterien zur Krümmelbildung nicht zu Fehldeutungen Anlaß gäbe, weshalb wir bei den Versuchen eine 24stünd. Bouillonkultur benützten, die nach Zusatz von 0,5proz. Karbolsäure filtriert wurde.) Die im Verlaufe der Epidemie bei unseren Tieren auftretenden hohen Agglutinationswerte lassen 2 Möglichkeiten der Erklärung zu: Entweder handelt es sich bei den betreffenden Tieren um eine bereits früher überstandene Erkrankung (Ausscheider), oder aber sind die an und für sich gesunden Tiere Bazillenträger und bleiben nur infolge des Vorhandenseins einer reichlichen Menge Immunkörper vor der Erkrankung verschont. Tatsächlich haben wir in der späteren Beobachtungszeit von den Kaninchen mit stark agglutinierendem Serum keines verloren. Es wäre jedenfalls angezeigt, beim Auftreten von Epidemien auf diese Fragen näher einzugehen.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die Ergebnisse der genauen Beobachtung und Untersuchung einer Kaninchenbrustseuche für eine einheitliche Auffassung aller jener Septikämieformen sprechen, die entweder mit oder ohne Zeichen katarrhalischer Prozesse seitens der obersten Luftwege im Obduktionsbefund schwerste Veränderungen an Lungen und großen serösen Blättern zeigen, wobei in den chronischen Fällen auch lokalisierte Abszeßbildungen vorkommen, in allen Fällen konnte aus dem Blut das influenzaähnliche Kokko-Stäbchen von Kraus gezüchtet werden. Auf das Vorhandensein von Bazillenträgern oder -ausscheidern, die möglicherweise Ausgangspunkt einer neuen Infektion sein könnten, wäre durch die Vornahme der Agglutinationsprozesse zu fahnden.

Literatur.

1) Glaue, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1910. S. 176. — 2) Hutyra u. Marek, Spez. Pathol. u. Terap. d. Haustiere. 6. Aufl. Bd. 120/121 Jena (Gustav Fischer). — 3) Kraus, R. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. S. 396. — 4) Beck, Ebenda. Bd. 4 1893. S. 363. — 5) Koppany, Zeitschr. f. Tierm. 1906. Bd. 16. S. 429. — 6) Laven Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. S. 97. — 7) Conimotti, Klin.-Vet. 1921. p. 45. — 8) Kurita, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. S. 508. — 9) Volk, Ibid. Bd. 31. S. 177.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen zur Frage der Antikörperbildung in der Haut.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Leipzig (Dir.: Prof. Dr. Georg Bessau).]

Von Dr. **Hans Fernbach**, und **Franz Hepner**,
Assistent der Klinik Med.-Prakt.

Mit 6 Kurven im Text.

Die ersten Versuche über die Bildungsstätten der Antikörper verdanken wir Pfeiffer und Marx (14); sie stellten die Milz als hauptsächlichsten Antikörperbildner durch Prüfung der Bakteriolysine fest. Bessau (1—3) und Neufeld und Meyer (11) sehen ganz allgemein das „reticulo-endotheliale System" als Bildungsstätte der Antikörper an.

Neuerdings tritt immer häufiger die Behauptung in den Vordergrund, daß die Haut des Menschen als Antikörper bildendes Organ in Frage kommt. Bessau und seine Schüler Köhler und Heilmann (9) haben gezeigt, daß von der Haut aus der Mensch spezifisch umgestimmt werden kann. Die Sensibilisierung des Menschen von der Haut aus erfolgt in gleichem Maße und bei gleichen Dosen wie bei intravenöser Injektion; die Prüfung der Sensibilisierung geschah dabei durch intrakutane Reaktionen.

Bei dieser Versuchsanordnung warfen Köhler und Heilmann selbst die Frage auf, ob bei ihrer Versuchsanordnung der intrakutanen Sensibilisierung die Antikörperbildung in der Haut selbst stattfände, oder ob durch den bei intrakutaner Injektion in der Haut gesetzten Antigenreiz bei vornehmlicher Bildung der Antikörper in den blutbildenden Organen eine Antikörperanreicherung in der Haut in Betracht komme. Um zunächst einmal das Auftreten der Antikörper bei verschieden gewähltem Orte der Antigendarreichung zeitlich und quantitativ verfolgen zu können, haben Fernbach und Häßler (4) in vergleichenden Versuchen nach intramuskulärer und intrakutaner Zuführung des Antigens die Entstehung solcher Antikörper geprüft, die im Blut leicht nachweisbar und quantitativ meßbar sind. Sie benutzten die Agglutininentstehung. Die Resultate dieser Untersuchungen waren analog den von Köhler und Heilmann im Ueberempfindlichkeitsversuch gewonnenen Ergebnissen: Bei intrakutaner wie bei intramuskulärer Zuführung des Antigens (abgetötete Ruhrbazillen) ergab sich bei Verwendung der Dosis immunisatoria minima ein gleich hohes und gleich schnelles Ansteigen des Agglutinationstiters im Blute. Doch konnte damit die Frage, ob die Bildung der Antikörper in Zellen der Haut selbst vor sich geht, nicht als entschieden angesehen werden; Fernbach und Häßler selbst formulierten die weitere prinzipielle Fragestellung folgendermaßen: „Entweder bilden die Zellen der menschlichen Haut, die mit dem Antigen in Berührung kommen, Antikörper, oder die Resorption des Antigens muß von der Haut aus ebenso schnell erfolgen wie aus dem Muskel".

Inzwischen hatten Neuhaus und Prausnitz (12) ihre Tierversuche veröffentlicht, durch die in Bestätigung der Resultate beim Menschen ein gleich hoher und gleich schneller Anstieg des Antikörpertiters auch am Tier nach intrakutaner und intravenöser Zuführung des Impfstoffes festgestellt wurde. Die Autoren fanden ferner, daß im Hautpreßsaft keine Antikörper nachgewiesen werden konnten, auch zu einer Zeit, in der das Blutserum reichlich agglutinierende und bakteriolytische Antikörper aufwies. Sogar der Hautpreßsaft der intrakutanen Impfstellen, an denen durch die intensive Einwirkung des Antigens den Hautzellen sicher die meiste Gelegenheit zur Antikörperbildung gegeben war, zeigte keine Agglutinine.

Diese Versuche stimmten also vollkommen mit unseren am Menschen angestellten überein, sie legten aber weiterhin den Schluß nahe, daß die Haut keine Antikörperbildungsfunktion hat; somit mußten in der Haut so gute Resorptionsbedingungen vorhanden sein, daß durch dieselben ein gleich schneller Anstieg des Agglutinationstiters nach intravenöser wie nach intrakutaner Injektion erklärlich würde.

In ihrer Arbeit hatten Fernbach und Häßler bei dem großen Saftreichtum der Haut beim Menschen immerhin die Möglichkeit der Antikörperbildung in den Zellen der Haut selbst für die wahrscheinlichere gehalten. Sie wurden zu dieser Annahme durch den Nachweis veranlaßt, daß andere kolloidal gelöste Stoffe bei intrakutaner Einverleibung am Orte der Applikation relativ lange Zeit nachweisbar bleiben (Serum, Tuberkulin).

Für die Frage der Resorbierbarkeit des Antigens aus der Haut dürfte es von größter Bedeutung sein, festzustellen, welche Teilchengröße der wirksame Bestandteil des Antigens besitzt. Je feiner dispers derselbe gefunden wird, um so größer ist natürlich die Wahrscheinlichkeit, daß auch von der Haut aus eine schnelle Resorption erfolgt.

Um die Frage zu klären, an welche Teilchengröße des Vakzins das immunisierende Prinzip geknüpft ist, wurde Vollvakzin in 3 nach dem Dispersitätsgrad verschiedene Fraktionen zerlegt und die agglutinogene Funktion der einzelnen Fraktionen bei intrakutaner Applikation untersucht. Von vornherein mußte darauf verzichtet werden, mit der Dosis immunisatoria minima zu arbeiten, da bei der Filtration, beim Zentrifugieren, Waschen usw. immer wirksame Bestandteile in nicht ohne weiteres bestimmbarer Menge verloren gehen. Immerhin wurden kleine Mengen zur Immunisierung verwandt, so daß die Entfernung von der Dosis immunisatoria minima nicht allzu groß war.

Die Darstellung des Vakzins geschah in folgender Weise:

10 Normalösen (mit einem Fassungsvermögen von 3 mg Wasser) einer 22stünd. Agarkultur eines leicht agglutinablen Typhusstammes (Kursstamm des Leipziger Hygienischen Instituts, mit unserem Immunserum bis 1:40000 agglutinierend) wurden in 50 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in 5 Röhrchen zu je 10 ccm eingeschmolzen, im Wasserbad von 57° 1 Std. lang versenkt gehalten und so abgetötet. Der Inhalt eines Röhrchens wurde ohne weitere Veränderungen als Vollvakzine verwendet; die übrigen 4 Röhrchen wurden 1 Std. lang bei 2000 Umdrehungen zentrifugiert, die überstehende, fast klare Flüssigkeit abgegossen und der Bodensatz eines Röhrchens noch zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und dann mit Kochsalzlösung auf die Ausgangsmenge aufgefüllt, um als Bakterienrückstand Verwendung zu finden; dieser enthielt also nur die Reste der Bakterienleiber ohne nennenswerte Beimengungen von kolloidal oder molekular-dispers gelösten Bestand-

teilen des Vakzins. Von der erwähnten überstehenden Flüssigkeit filtrierten wir 10 ccm durch Tonkerzen, um den Rest von Bakterienleibern sicher daraus zu entfernen. In diesem Tonkerzenfiltrat waren die kolloidal und die molekular-dispers gelösten Bestandteile des Vakzins zusammen enthalten. Der Rest der nach dem Zentrifugieren überstehenden Flüssigkeit wurde bei 10 mm Hg-Druck durch Kollodium-Ultrafilter gesaugt, so daß aus dieser Lösung — Ultrafiltrat — noch sämtliche kolloidalen Bestandteile entfernt waren. Das Ultrafilter wurde vor und nach Filtration mit Kollargollösung geprüft und erwies sich als dicht. Bei 48stünd. Bebrütung in Bouillon blieben Proben aus allen 4 Impfstoffen steril.

Von den 4 Impfstoffen wurde je 0,1 ccm intrakutan an je 3 bzw. 4 Kinder, die sich im Alter ungefähr entsprachen, injiziert, und vor und am 6., 9. und 12. Tage nach der Injektion die Agglutinationsfähigkeit des Serums der Kinder gegenüber dem zur Impfung verwendeten Typhusstamm geprüft. Die Agglutinationen wurden mit Aufschwemmungen 24stünd. Agarkulturen angesetzt und in der üblichen Weise nach 2stünd. Verweilen im Brutschrank und 22stünd. Stehen bei Zimmertemperatur abgelesen.

Ueber die Ergebnisse gibt die nachstehende Tabelle Auskunft. Im allgemeinen ist zu sagen: Ultrafiltrat wirkte überhaupt nicht, dagegen erwies sich die Agglutininbildungsfähigkeit bei Anwendung von Vollvakzin, Bakterienrückstand und Tonkerzenfiltrat in diesen Versuchen als gleich. Während sich aber am 6. Tage bei 5 von den 7 Kindern[1]), die mit Tonkerzenfiltrat bzw. Vollvakzin gespritzt waren, eine deutliche Agglutination bemerkbar machte, war zu dieser Zeit bei den 3 mit Bakterienrückstand geimpften Kindern noch keine Agglutination festzustellen, obwohl gerade in dieser Gruppe am 12. Tage der höchste überhaupt erzielte Agglutinationstiter erreicht wurde. Dieses Resultat entspricht den Ergebnissen von Pfeiffer und Bessau (13), daß nämlich das agglutinogene Prinzip bei dieser Art der Vakzinbereitung in besonderem Grade an die Bakterienleiber gebunden ist. Die Verzögerung des Anstiegs des Agglutinationstiters gerade bei dem am besten mit den agglutinogenen Fähigkeiten ausgestatteten Bestandteil des Vakzins ist für unsere Fragestellung nicht uninteressant. Die Annahme, daß das kolloidal gelöste Bakterieneiweiß schneller vom Kreislauf aufgenommen wird als die korpuskulären Elemente, liegt nahe; mit ihr stimmen unsere Versuchsergebnisse überein, daß bei Anwendung der kolloidalen Fraktionen und des Vollvakzins, das ebenfalls die kolloidal gelösten Substanzen enthält, ein früheres Auftreten von Agglutininen zu beobachten war als bei Injektion lediglich des Bakterienrückstandes.

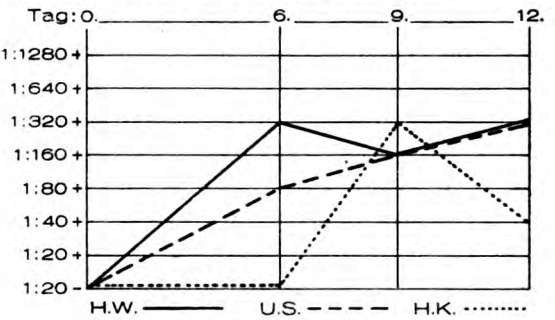
Die Wirksamkeit der beiden Vakzinbestandteile Bakterienrückstand und Tonkerzenfiltrat auch bei intrakutaner Injektion ist durch diesen Versuch erwiesen. Der negative Ausfall der Vakzination mit Ultrafiltrat macht unwahrscheinlich, daß ein molekular-dispers gelöster Stoff für die Agglutininbildung verantwortlich gemacht werden kann.

In den Hautreaktionen über den Injektionsstellen waren wesent-

1) Die Sera jener beiden Kinder dieser Gruppen, die am 6. Tage noch keine Agglutination aufwiesen, agglutinierten auch später nur schwach, eins nur bis 40 +, das andere bis 320 +, aber schon am 12. Tage nur noch bis 40 +. Diese beiden Kinder waren also offensichtlich an und für sich schlechte Agglutininbildner.

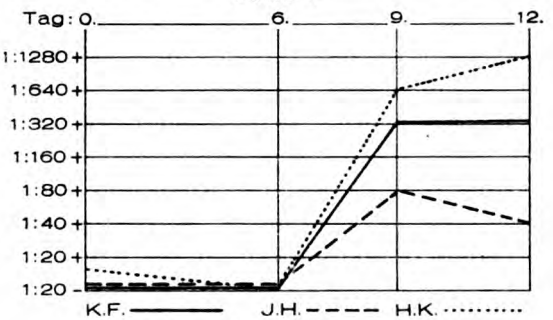
Agglutinationsgrenze bei intrakutaner Injektion von Typhus-Vollvakzin, Bakterienrückstand, Tonkerzenfiltrat und Ultrafiltrat.

Vollvakzin	Hautreaktionen über den Injektionsstellen n. 16 Std.	n. 40 Std.
H. W., 3½ Jahre (Idiotie)	6 44	11 27 45
U. S., 10 Jahre (afebr. Lungentbc.)	8 22	11
H. K., 14 Jahre (Di-Rekonv.)	7 39	11 55



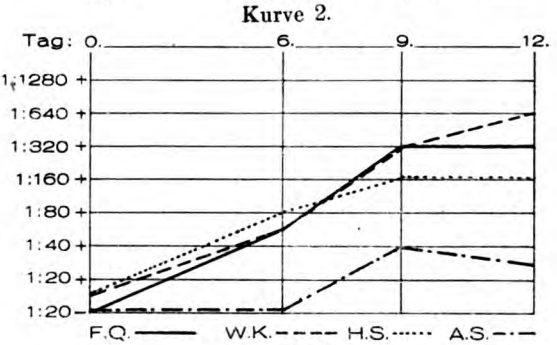
Kurve 1.

Bakterienrückstand		
K. F., 4¾ Jahre (Ascites)	5 37	6 44
J. H., 11 Jahre (Di-Rekonv.)	8 35	8 40
H. K., 13 Jahre (Allgemeinbeschwerden)	4 38	7 35 53



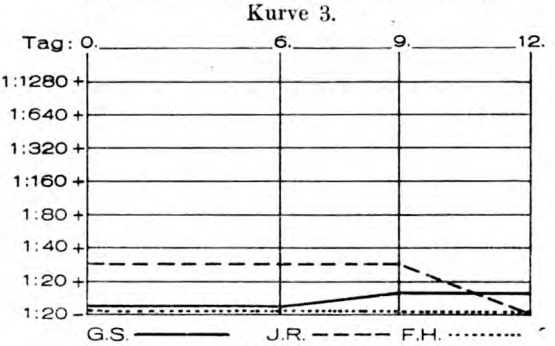
Kurve 2.

Tonkerzenfiltrat		
F. Q., 1¾ Jahre (Drüsentbc.)	3 19	geht zurück
W. K., 4 Jahre (Di.-Rekonv.)	10 40	10 52
H. S., 9 Jahre (Skrofulose)	6 36	7 39 57
A. S., 11 Jahre (afebr. Lungentbc.)	6 29	9 18 38



Kurve 3.

Ultrafiltrat	
G. S., 12 Jahre (Herzfehler)	ca. 3 mm Stichreaktion
J. R., 13 Jahre (afebr. Lungentbc.)	3 „ „
F. H., 22 Jahre (–)	3 „ „



Kurve 4.

liche Unterschiede nicht festzustellen, Ultrafiltrat bewirkte allerdings nur Stichreaktionen.

Dieses Resultat würde für die von Fernbach und Häßler für näherliegend gehaltene Annahme sprechen, daß im Analogieschluß zum Verhalten anderer kolloidaler Substanzen, z. B. Tuberkulin und Serum, eine schnelle Resorption der wirksamen Substanzen nicht gerade wahrscheinlich ist.

Wir suchten nun nach einer Methode, um eine eventuelle Antikörperbildung in der Haut selbst der Untersuchung zugänglich zu machen, und wurden dabei auf die Thomas-Arnoldsche Blasenmethode aufmerksam.

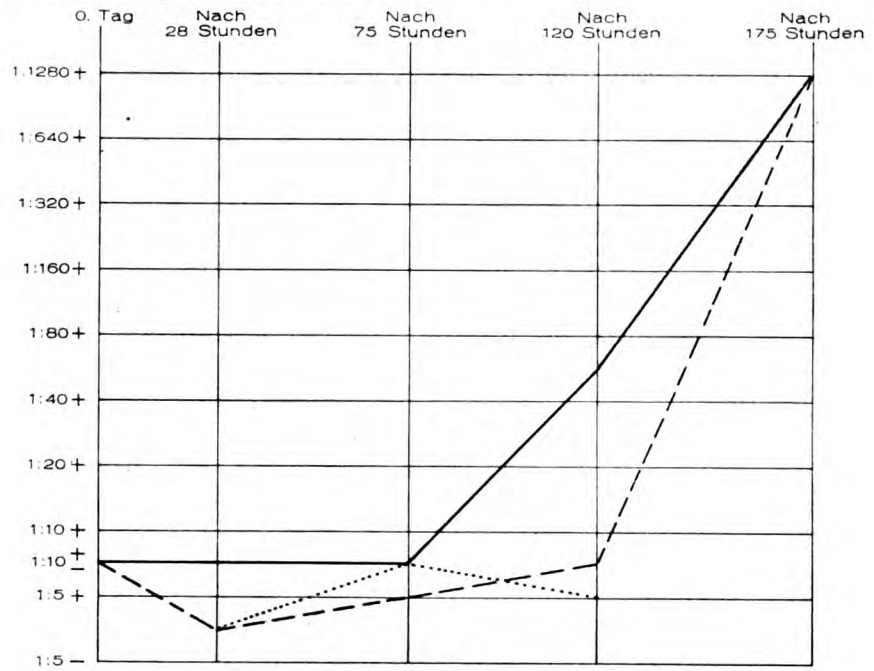
Hofmann hatte schon 1897 darauf hingewiesen, daß der Inhalt von Kantharidenblasen, die auf der Haut von Typhuskranken bzw. mit Typhusvakzinierten gezogen waren, agglutinierende Fähigkeiten besitzt; Thomas und Arnold haben diesen Befund bestätigt und fanden außerdem bei angeborener Lues die Wassermannsche Reaktion im Blaseninhalt positiv (17). Diese Blasenmethode wurde von ihnen ganz allgemein zur Prüfung der Gewebsflüssigkeit der Haut empfohlen.

In einer großen Versuchsreihe von 20 Kindern, von denen 13 intrakutan und 7 subkutan mit Typhus vakziniert wurden, hat Thomas (21) 24, 48 usw. Std. nach der Injektion auf der Impfstelle und einer freien Kontrollstelle der Haut Kantharidenblasen gezogen. Es glückte einmal, im Blaseninhalt über einer intrakutanen Injektionsstelle nach 48 Std. eine Agglutination von 1/100 nachzuweisen, während im Blut und in der Kontrollblase um diese Zeit noch keine Agglutination zu finden war. Daß es sich um eine unspezifische Reaktion handeln könnte, wird von Thomas als unwahrscheinlich abgelehnt, er neigt mehr der Ansicht zu, „daß hier ein besonderer Glücksfall vorlag, der die vielleicht sehr flüchtige Phase lokaler Agglutininbildung der Untersuchung zuführte." Der nur einmalige Befund scheint uns für die Beweisführung einer Antikörperblidung in der Haut nicht auszureichen.

An die Blasenmethode ist man noch von anderen Gesichtspunkten aus herangegangen. Kurz nach der 1. Arbeit von Thomas und Arnold veröffentlichte Gänßlen einen Aufsatz (5), in dem von großer Uebereinstimmung von Kantharidenblaseninhalt und Blutserum bezüglich des Gehalts an Eiweiß, Reststickstoff und Traubenzucker unter normalen Verhältnissen berichtet wurde. Trotz des Titels „Durchlässigkeit der Haargefäßwand beim Menschen" und der in der Arbeit gebrachten Analysen schließt sich Gänßlen in seinem Schlußzitat der Anschauung von Thomas und Arnold an: „„Wir haben es mit einer nur wenig veränderten Gewebsflüssigkeit zu tun, wie wir sie auf andere Weise aus dem Körper sonst nicht erhalten, und somit eignet sich der Inhalt der Kantharidenblase für einen großen Teil von Fragestellungen biologischer Natur" (Thomas und Arnold)".

In der Deutung des Kantharidenblaseninhalts als ausgetretener Blutflüssigkeit oder als Hautgewebssaft möchten wir uns für die erste Möglichkeit entscheiden, und demnach die Blasenmethode für die Untersuchung der Frage der Antikörperbildung in der Haut nicht für geeignet halten. Immerhin wurde nach der Thomas-Arnoldschen Methode aus Orientierungsgründen an dem einen von uns (H.) folgender Selbstversuch angestellt.

Von dem oben beschriebenen Typhusvollvakzin, das mit gleicher Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde, wurden gleichzeitig an 3 Stellen je 0,1 ccm intrakutan in die Bauchhaut injiziert. Ein vorausgegangener Versuch an mehreren Kindern hatte uns gezeigt, daß schon die Vakzinmenge, die so bei jeder einzelnen Injektion in der Bauchhaut deponiert wurde, zur Erzielung einer deutlichen Agglutination genügte. Ueber den Injektionsstellen und entsprechenden Kontrollstellen der normalen Haut wurden Kantharidenpflaster gelegt, und der Blaseninhalt 28, 75, 120 und 175 Std. nach der Injektion entnommen. Zur gleichen Zeit wurde Blut durch Venenpunktion gewonnen und Blutserum und Blaseninhalt auf Agglutinine geprüft. Bei Anlegung der Kantharidenblase wurde so vorgegangen, daß die Pflaster ca. 16 Std. vor der beabsichtigten Eröffnung der Blasen angelegt wurden, so daß die Entnahme auf dem Höhepunkte der Ausbildung der Blase vorgenommen wurde.



Kurve 5.

Serum — Blaseninhalt über Injektionsstelle — Blaseninhalt über normaler Haut

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Inhalt der nach 28, 75, 120 und 175 Std. über den geröteten und infiltrierten Injektionsstellen und den entsprechenden Kontrollstellen eröffneten Kantharidenblasen genau den gleichen Agglutinationstiter wie die gleichzeitig entnommenen Blutproben ergab. Nach 175 Std. trat, wie nachfolgender Auszug aus dem Versuchsprotokoll darlegt, bei Kontrollblase wie im Blutserum — eine 4. Injektionsstelle war leider nicht vorhanden — bei Ansetzen der Agglutination 10 Std. nach der Entnahme der Körperflüssigkeiten in den starken Konzentrationen bis 1/40 so

hochgradige Lösung der Bazillenemulsion ein, daß eine Agglutination nicht zu erkennen war. Die Reaktionen wurden nach 60stünd. Stehen der Körperflüssigkeiten im Eisschrank erneut angesetzt und ergaben nunmehr auch in den starken Konzentrationen grobflockige Agglutination, dagegen keine Lösung mehr.

Nach 175 Stunden	Agglutinationsverlauf								
	1/5	10	20	40	80	160	320	640	1280
Blase (über normaler Haut)	gelöst	gelöst	gelöst	+	++	+++	+	+	±
Blutserum. Agglutination 10 Stunden nach Entnahme von Blut bzw. Blaseninhalt angesetzt!	gelöst	gelöst	gelöst	gelöst	++	++	+++	++	±
Blase (über normaler Hant)	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	±
Blutserum. Agglutination 60 Stunden nach Entnahme angesetzt, es handelt sich um dieselben Flüssigkeiten wie oben!	++	++	++	++	+++	++	+	+	±

Aehnliche Erfahrungen der starken Lösung der Typhusbazillen in hoher Konzentration des kurz nach der Gewinnung angesetzten Serums hatten wir schon bei den oben geschilderten ersten Versuchen gemacht und konnten die gleiche Erscheinung bei dem nachher beschriebenen Kaninchenversuch ebenfalls bis 1/40 im Serum wie im Plasma beobachten. Diese bakterienlösende Eigenschaft frischen Immun-Blutserums und -Plasmas ist schon lange bekannt. Es erscheint immerhin auffallend und ist unseres Wissens nicht beschrieben, daß so beträchtliche Bakterienmengen, wie sie zum Ansetzen der Agglutinationen hinzugefügt wurden, im frischen Immunserum und -Plasma auch noch bei erheblicher Verdünnung derselben innerhalb kurzer Zeit fast völlig in vitro aufgelöst werden. Unsere Beobachtung spricht dafür, daß diese bakterienlösende Wirkung des Serums und Plasmas, die es gar nicht zu einer Agglutination kommen läßt, sehr schnell in vitro verloren geht.

Das gleichmäßige Verhalten des Agglutinationsvermögens von Blaseninhalt und Blutserum bestärkte uns in der Auffassung, daß es sich beim Blaseninhalt nicht um eine Flüssigkeit handelt, die im Gewebe gebildet wird oder auch nur immer dort sich befindet, sondern um nur wenig veränderte Blutflüssigkeit, die im Anschluß an die durch Kantharidin hervorgerufene Hyperämie und Entzündung aus den Kapillaren ausgetreten ist. Dieser Schluß scheint um so mehr berechtigt, als Thomas und Arnold (20) den überraschend schnellen Uebergang im Blute kreisender Substanzen in den Blaseninhalt mit Fluoreszin schon 30 Sek. nach der intravenösen Injektion nachgewiesen haben. Daß dabei unter bestimmten pathologischen Verhältnissen quantitative Unterschiede im Prozentgehalt der betreffenden Substanzen bestehen können, legen die Arbeiten von Gänßlen (5—7) dar, wobei die Ursache dieser quantitativen Unterschiede wohl nicht im Epithel,

sondern im Gefäßapparat der Haut zu suchen ist. Aus diesen Gründen sehen wir auch keinen Widerspruch zwischen den Ergebnissen von Neuhaus und Prausnitz (12), die im Preßsaft herausgeschnittener Hautstückchen am Tier auch bei hohem Agglutinationstiter des Serums keine Agglutination nachweisen konnten, und der Aggultinationsfähigkeit des Blaseninhalts, die der des Serums parallel geht. Zur Feststellung einer Agglutinin-bildenden Funktion der Haut scheint uns nur die Neuhaus-Prausnitzsche Methode beweisend.

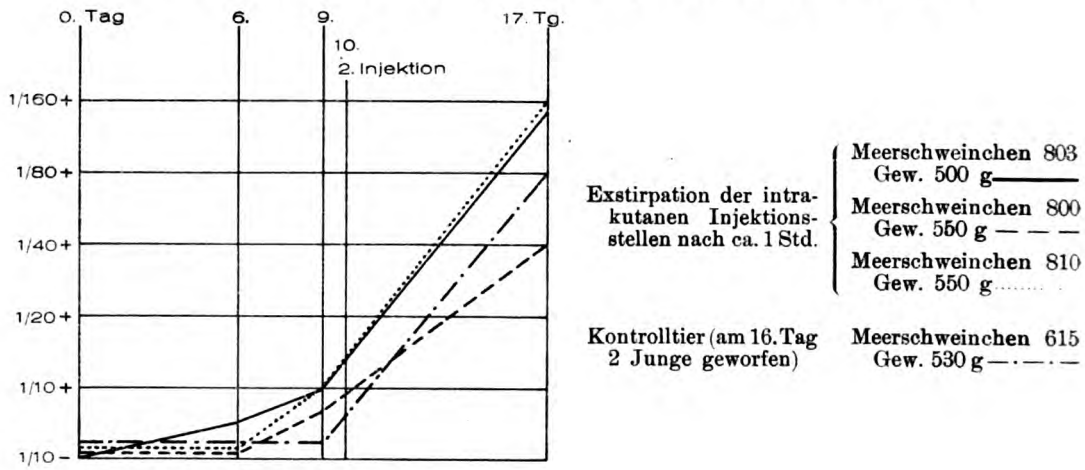
Diese Beobachtungen bei Anwendung der Blasenmethode sprachen für einen raschen Uebergang selbst kolloidal gelöster Stoffe aus dem Körper in die Haut. Auf ganz anderem Wege gewonnene Erfahrungen machten uns wahrscheinlich, daß auch der umgekehrte Weg, die Resorption kolloidaler Substanzen von der Haut in den Körper, recht schnell durchlaufen wird.

In 4 von unseren Fällen — Bessau (3) stellte bei intrakutaner Ruhrvakzination in 20 Proz. der Fälle Temperatursteigerungen fest — konnten wir Allgemeinerscheinungen beobachten. Im Selbstversuch machten sich schon 1 Std. nach intrakutaner Injektion des Typhusimpfstoffes ganz unerwartet Allgemeinerscheinungen bemerkbar, sehr starke Kopfschmerzen, Frieren und Unbehagen; leichtes Zittern und Cyanose des Gesichts fielen anderen Personen auf. Nach 2 Std. war alles vergangen, nur rektal ließ sich eine Temperatur von 38,2° feststellen. Wie wir nachträglich durch genaues Befragen der Schwester erfuhren, sind ähnliche Erscheinungen in entsprechender Zeit bei 2 Kindern aufgetreten, die mit Tonkerzenfiltrat gespritzt waren, von Temperatursteigerungen bis 38,1° bzw. 38,6° gefolgt. Bei einem 3. mit Kerzenfiltrat vakzinierten Kind ließ sich nur eine Temperaturzacke bis 38,5° feststellen, ohne daß sich Allgemeinerscheinungen gezeigt hatten, während ein mit Vollvakzin und ein mit Ultrafiltrat vakziniertes Kind keine Temperaturerhöhungen erkennen ließen. Bei den übrigen Kindern sind aus äußeren Gründen zur fraglichen Zeit keine Temperaturmessungen ausgeführt worden, Allgemeinerscheinungen sind nicht aufgefallen.

Dieses schnelle Auftreten von Allgemeinerscheinungen wies darauf hin, daß auch bei intrakutaner Injektion des Antigens eine schnelle Resorption desselben stattfindet. Um weiter zu erweisen, daß auch die schnelle Bildung der Antikörper nach intrakutaner Zuführung des Antigens der schnellen Resorption von der Haut aus zuzuschreiben ist, wurde an Tieren 1 Std. nach intrakutaner Injektion des Antigens die betreffende Hautstelle exzidiert. Fand nun eine Agglutination im Serum auch jener Tiere statt, bei denen die Injektionsstellen herausgeschnitten waren, so glaubten wir den Beweis erbracht zu haben, daß in der fraglichen, im Verhältnis zur Dauer der Antikörperbildung recht kurzen Zeit genügend Antigen aus der Haut in den Kreislauf und an die Antikörperbildungsstätten gelangt war. Genaueres über die Vollständigkeit der Resorption ist aus diesem Versuch nicht abzuleiten, da absichtlich nicht exakt mit der Dosis immunisatoria minima gearbeitet worden ist. Die Injektionsstellen waren durch die Exstirpation nach 1—$1^1/_2$ Std. für die Agglutininbildung ausgeschaltet; wenn nun trotzdem eine Agglutininbildung eintrat, konnte diese wohl nur durch Bildung an anderer Stätte nach rascher Resorption des Antigens erklärt werden.

Um dieses Experimentum crucis zu machen, wurde 4 ungefähr

gleich schweren, ausgewachsenen Meerschweinchen je $^1/_{50}$ Oese Typhusvollvakzin in 0,1 ccm physiol. Kochsalzlösung, also genau die gleiche Dosis wie bei den Kindern, intrakutan injiziert und bei 3 Tieren 1, $1^1/_4$ und $1^1/_2$ Std. nach der Injektion die Haut an der Injektionsstelle in einem Durchmesser von ca. 2 cm bis auf die Faszie entfernt. Die Tiere fühlten sich nach der Injektion heiß an, $1^3/_4$ Std. nach der Injektion schien die normale Temperatur wieder erreicht zu sein. Ueber den Ausfall des Meerschweinchenversuchs berichtet nachstehende Kurve. Wie schon nach den Versuchen Krauspes (10) zu erwarten war, genügte diese einmalige Injektion nicht, um sichere Agglutininbildung zu erzielen. Darum wurde am 10. Tage nach der ersten Injektion die $1^1/_2$fache Menge desselben Vakzins noch einmal intrakutan injiziert, und die Injektionsstellen bei den 3 Tieren in gleichem Ausmaß wie vor 10 Tagen nach 50 Min. bzw. 1 Std. exzidiert. Am 17. Tage nach der Erstinjektion, am 7. nach der zweiten, agglutinierten die Seren der Tiere deutlich bis 1/160 bzw. 1/320, eins nur bis 1/40, zu-



Kurve 6.

fälligerweise von dem Tier, bei dem die längste Zeit zwischen Injektion und Exstirpation verstrichen war. Das Serum des Kontrolltiers agglutinierte nur bis 1/80.

Obwohl der Versuch keinen Unterschied zwischen den 3 Tieren mit den exzidierten Injektionsstellen und dem Kontrolltier ergibt, befriedigt er deshalb nicht recht, weil das Antigen zweimal zugeführt werden mußte. Eine Begründung hierfür liegt in der bekannten Tatsache, daß das Meerschweinchen in der Fähigkeit der Antikörperbildung weit hinter Mensch und Kaninchen zurücksteht. Der gleiche Versuch wurde deshalb an 6 Kaninchen wiederholt.

Bei den Meerschweinchen war nach der Injektion eine Temperaturerhöhung aufgefallen; um eine solche auch zahlenmäßig festlegen zu können, wurden bei den Kaninchen bereits 2 Tage lang vor der Injektion die Temperatur regelmäßig bestimmt. Dann wurde an 3 Tieren, No. 1—3, die in Aussicht genommene epilierte Injektionsstelle in 2 Markstückgröße umschnitten, um eine flächenhafte Ausbreitung des Vakzins in den oberflächlichen Lymphspalten der Haut zu verhindern.

zwischen Injektionsstelle und umgebender Haut. Danach wurde diesen Tieren und 3 Kontrolltieren, No. 4—6, je $^1/_{50}$ Oese Typhusvollvakzin intrakutan injiziert, und nach genau 1 Std. bei den Tieren No. 1—3 die schon abgegrenzte Haut der Injektionsstellen und dazu gleichgroße Kontrollstellen der anderen Seite exzidiert; in der Zwischenzeit wurde die Temperatur der Tiere 3—4mal kontrolliert. 2×24 Std. nach der Injektion wurden auch bei Tier 5 und 6 die bei beiden Tieren stark geröteten und ziemlich derb infiltrierten Injektionsstellen herausgeschnitten. 3×24 Std. nach der Injektion wurden Tier 1 und 4, 4×24 Std. nach der Injektion Tier 2 und 5 durch Entbluten getötet; beidemal ein Tier mit nach 1 Std. exzidierter Injektionsstelle und ein entsprechendes Kontrolltier, dem die Haut der Injektionsstelle 2×24 Std. oder überhaupt belassen war. Tier 3 und 6 wurden bis zum 12. Tage nach der Injektion auf Agglutinine im Blutserum geprüft.

Nach dem Pfeiffer-Marxschen Verfahren wurden Haut, Leber, Lunge und Milz, außerdem das Serum der Tiere auf Agglutinine untersucht. Die herausgeschnittenen Injektionsstellen und die Kontrollstellen wurden auf der chemischen Wage mitsamt daran hängendem Unterhautfettgewebe und ganz minimalen Blutresten auf $^1/_{100}$ g genau gewogen, in einer Reibschale unter Zusatz von Glasstaub und der $1^1/_2$fachen Menge Ringerlösung zerrieben, nachdem mit der Schere die größeren Stücke noch etwas zerkleinert waren, und die Gewebsbreie 24 Std. lang im Eisschrank belassen. Eine restlose Zerkleinerung der schließlich ganz trocken gequetschten obersten Epithelschicht gelang nicht.

Mit Leber, Lunge und Milz wurde entsprechend verfahren. Die Leberextrakte waren stark milchig getrübt, und bei Zusatz von Kochsalzlösung fand sich auch ohne Bakterienaufschwemmung eine deutliche Flockung bis zu starken Verdünnungen hinauf, so daß auf die Agglutinationsprüfung der Leberextrakte verzichtet werden mußte.

Die Haut und Milzextrakte waren völlig klar, beide allerdings lackfarben rot durch die Hämolyse der zertrümmerten roten Blutkörperchen. Die Klarheit des Lungenextraktes ließ zu wünschen übrig, doch war eine Ablesung der Agglutination noch gut möglich.

Daß die Eingriffe, denen die Gewebe unterworfen wurden, keine Veränderungen der Antikörper verursachen, haben Pfeiffer und Marx schon festgestellt (13), so daß der Nachweis hier unterbleiben konnte.

Die Berechnung der beim Zerreiben zugesetzten Mengen Ringerlösung geschah nach den Grundsätzen der Pfeiffer- und Marxschen Arbeit (13); Gewebe wie Blut werden in ihrem Wert gleich 2 gesetzt, Serum gleich 1, da es ca. 50 Proz. des Blutes ausmacht. Unser Ringerlösungszusatz war so gewählt, daß man im ersten Röhrchen der Agglutinationsreihe die Konzentration 1/10 erreichte, wenn man gleiche Teile zentrifugierter Gewebsflüssigkeit und der zur Agglutination benutzten Bakterienaufschwemmung zusammenbrachte. Die zuerst entnommenen Hautstücke waren etwas klein, und bei entsprechendem Ringerlösungszusatz hätten wir zu wenig Hautextrakt gewonnen, darum haben wir, vor allem zum Ausspülen des Mörsers, genau abgemessene Mengen Ringerlösung noch besonders hinzufügen müssen, so daß dann die Agglutinationen nur mit geringeren Konzentrationen (1/15, 1/20, in 1 Falle 1/40) begonnen werden konnten.

Nachstehende Tabelle unterrichtet in Zahlen über die Befunde:

Agglutinationstiter des Blutserums und einzelner Organe von Kaninchen Nr. 1—6.

(Es sind immer die Werte von Kaninchen 1 und 4, 2 und 5, 3 und 6 nebeneinander eingetragen, also immer ein Tier mit nach 1 Std. exzidierter Injektionsstelle in Parallele gesetzt zu dem entsprechend behandelten Kontrolltier, dem die intrakutane Injektionsstelle längere Zeit belassen war. Durch diese Anordnung soll die Gleichheit im Verhalten von Exzisionstier und Kontrolltier augenfällig gemacht werden.)

	Tag	Blutserum		Haut der Inj.-Stelle		Haut der Kontr.-Stelle		Lunge		Milz	
Tier		1	4	1	4	1	4	1	4	1	4
	0	10 —	10 —	15 —	.	30 —	.	.	.	.	.
	3	10 ∓	10 +	.	.	.	.	10 —	10 —	10 —	20 ∓
Tier		2	5	2	5	2	5	2	5	2	5
	0	10 ∓	10 —	15 —	.	40 —	.	.	.	.	.
	2	.	.	.	10 —	.	10 —	.	.	.	.
	4	80 +++ (160 ∓)	80 +	.	.	.	.	20 +	40 +	160 + (320 ∓)	160 ±
Tier		3	6	3	6	3	6	3	6	3	6
	0	40 +	160 +	15 —	.	20 —	.	.	.	.	.
	2	.	40 +	.	10 —	.	10 —	.	.	.	.
	5	640 +	1280 +	.	.	.	.	.	.	.	.
	7	640 +	1280 +	.	.	.	.	.	.	.	.
	8	1280 +	2500 +	.	.	.	.	.	.	.	.
	12	640 ++/+	1280 +	.	.	.	.	.	.	.	.

\+ bedeutet mit bloßem Auge gut erkennbare Agglutination.
± bedeutet mit Lupe deutlich erkennbare Agglutination, nur angeführt, wenn auch die vorangehenden Röhrchen keine stärkere Agglutination zeigten.
∓ bedeutet nur mit Lupe als ganz schwach vorhanden erkennbare Agglutination.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

Bei allen 6 Kaninchen ergaben sich innerhalb der ersten beiden Stunden nach der Injektion Temperatursteigerungen um 0,6° bis 1,8°, deren Beginn schon 15 Min. nach den Injektionen feststellbar ist. Sämtliche Hautextrakte, von 1 Std. nach der Injektion herausgeschnittener Haut wie von der später exzidierten, agglutinierten überhaupt nicht, auch nicht von den Tieren, deren Seren schon vor der Injektion des Vakzins Agglutinationen bis 1/40 bzw. 1/160 aufwiesen. Die Ergebnisse von Neuhaus und Prausnitz finden hierdurch ihre Bestätigung.

Nach 3×24 Std. fand sich im Serum der beiden getöteten Tiere ein ganz geringes, nicht verwertbares Auftreten von Agglutininen, ebenso ergab Milz- und Lungenpreßsaft keine deutliche Agglutination.

Nach 4×24 Std. war bei einem Tier, bei dem 1 Std. nach der Injektion die Injektionsstelle entfernt war, in der für das kleine Tier auffällig großen Milz eine deutliche Agglutination bis 1/160 +, 1/320 ∓ nachzuweisen. Serum agglutinierte bis 1/80 +++, so daß in diesem Falle eine Erhöhung des Agglutinationstiters in der Milz gegenüber dem des Blutes nachgewiesen ist. Schon gleiche Höhen des Serum- und Gewebstiters würden entsprechend der Berechnung von Pfeiffer und Marx eine Teilnahme des betreffenden Gewebes an der Agglutininbildung beweisen.

Bei dem ebenfalls nach 4×24 Std. getöteten Kontrolltier zeigte sich im Serum eine Agglutination bis 1/80 +, im Milzsaft ließ sich eine in allen Konzentrationen bis 1/160 gleich starke, nur mit der Lupe (±) erkennbare Agglutination feststellen, so daß auch dieses Resultat ganz im Sinne der Versuche von Pfeiffer und Marx spricht, wenn diese auch nicht Agglutinine, sondern Bakteriolysine prüften. Kaninchen 3 (Hautstelle nach 1 Std. exzidiert) und Kaninchen 6 (Hautstelle nach 2×24 Std. exzidiert) erreichten am 8. Tage einen Agglutinationstiter von 1/1280 + bzw. 1/2500 +, in den starken Konzentrationen von 1/10 bis 1/40 bzw. 1/80 ist bei Ansetzen der Agglutination 2 Std. nach der Blutentnahme sehr starke Lösung der Bakterienaufschwemmung eingetreten, so daß nur eine ganz feine Agglutination in völlig klarem Medium festgestellt werden konnte, ganz im Einklang mit den schon oben mitgeteilten Beobachtungen beim Menschen.

Die Versuche ergaben, daß bezüglich des Agglutiningehalts der Seren kein Unterschied zwischen den Tieren mit nach 1 Std. exzidierter Injektionsstelle und den Kontrolltieren besteht, denen entweder gar nicht oder erst sehr viel später die Injektionsstellen herausgeschnitten worden sind. Nach diesem Ausfall des Experiments scheint erwiesen, daß in 1 Std. genügend Antigen zur Erzielung des maximalen Agglutinationstiters nach intrakutaner Injektion aus der Haut resorbiert wird.

In der exakten Beweisführung, daß die menschliche Haut mit der Agglutininbildung ebensowenig wie die tierische etwas zu tun hat, besteht noch eine Lücke. Die Versuche müßten noch durch Untersuchung der Agglutininbildung beim Menschen nach Exzision der intrakutanen Injektionsstellen und Untersuchung des Hautpreßsaftes beim Menschen auf Agglutinine ergänzt werden, doch war beides nicht ohne weiteres möglich; zur Exzision von Haut am Menschen haben wir uns nicht entschlossen, weil sie uns tatsächlich nicht mehr notwendig erscheint, denn eine einfache Kombination der Tier- und Menschenversuche ergibt:

Eine überraschend schnelle Resorption von Antigen auch durch die menschliche Haut ist durch die 3 Fälle, in denen toxische Erscheinungen 1 Std. nach der Injektion aufgetreten sind, erwiesen. Eine Antikörperbildung in dieser kurzen Zeit ist für die Kaninchenhaut durch das Experiment ausgeschlossen, und es liegt kein Grund zu der Annahme vor, daß sich die menschliche Haut in dieser Beziehung prinzipiell von der tierischen unterscheidet. Demnach findet die Antikörperbildung nach intrakutaner Injektion nicht in der Haut, sondern an anderen Stellen des Organismus statt.

Dagegen liegt die Vorstellung sehr nahe, daß es sich um Resorptionsvorgänge handelt, deren Schnelligkeit von der Größe der zu resorbierenden Teilchen abhängig ist. Das schon erwähnte verspätete Auftreten der Agglutination bei intrakutaner Applikation von Bakterienrückstand spricht recht in diesem Sinne; wir stellen uns vor, daß die Bakterien zum Teil erst in der Haut kolloidal gelöst werden, und daß es dann zur Resorption des in den Gewebssäften kolloidal gelösten Antigens kommt.

Mit ähnlichen Fragen befaßt sich eine Arbeit von Kasahara (8), in der die Resorptionsverhältnisse bei intrakutaner und subkutaner In-

jektion von — kolloidal gelöstem — Phenolsulfophtalein an Kaninchen miteinander verglichen werden. Es zeigte sich, daß ca. 90 Proz. der injizierten Menge nach 2 Std. im Harn ausgeschieden waren nach intrakutaner Injektion des Phenolsulfophtaleins, bei subkutaner Injektion war diese Ausscheidung schon nach 85 Min. erreicht; das bedeutet also eine Verzögerung der Resorption bei intrakutaner Injektion um 30 Proz. gegenüber der bei subkutaner Zuführung.

Bei diesen Versuchen Kasaharas wurden immer die subkutanen Injektionen 5 Tage vor den intrakutanen Phenolsulfophtaleininjektionen an den gleichen Tieren gemacht, so daß die Berücksichtigung von Verschiedenheiten der Nierenfunktion nicht nötig war. Wesentliche individuelle Differenzen wiesen die betreffenden 4 Versuchstiere bezüglich der Ausscheidungszeit nicht auf, die oben angegebenen Zahlen sind also mehr als nur Durchschnittswerte.

Die Arbeit von Kasahara ist für uns besonders bemerkenswert, weil hier mit einer Methode, die von unserem Vorgehen — Exzision der Injektionsstellen bald nach der Injektion — ganz verschieden ist, den unseren entsprechende Resultate gewonnen sind. Bei beiden Methoden erweist sich im Experiment, daß nach intrakutaner Injektion kolloidalgelöster, durch Kollargoldichte Filter zurückgehaltener Substanzen die Resorptionszeit derselben recht gering ist.

Als Ergebnis vorliegender Arbeit darf zusammengefaßt werden: 1) Der Anreiz zur Agglutininbildung wird nicht durch molekulardispers, sondern kolloidal verteilte Vakzinbestandteile gegeben. Ultrafiltrat des Vakzins wirkt überhaupt nicht, Bakterienrückstand wirkte bei intrakutaner Injektion etwas verspätet gegenüber den anderen wirksamen Vakzinfraktionen, Vollvakzin und Tonkerzenfiltrat. — 2) Bei der menschlichen Haut ist der Agglutinationstiter im Blaseninhalt über intrakutanen Injektionsstellen und Kontrollstellen gleich dem des Blutes, das zur gleichen Zeit wie der Blaseninhalt dem Körper entnommen ist. — 3) Nach Herausschneiden der intrakutanen Impfstellen ca. 1 Std. nach der Injektion des Antigens tritt bei Meerschweinchen wie bei Kaninchen die Agglutination genau wie bei den Kontrolltieren auf, denen die Injektionsstellen ganz oder noch 2×24 Std. belassen waren. Beim Menschen können toxische Erscheinungen schon 1 Std. nach der intrakutanen Vakzininjektion eintreten, bei Tieren beginnt eine Temperaturerhöhung bereits 15 Min. nach der intrakutanen Injektion. — 4) Hautzellen kommen bei intrakutaner Typhusvakzination als Agglutininbildner nicht in Betracht; daß selbst bei intrakutaner Vakzination die Agglutinine in der Milz gebildet werden, ist sehr wahrscheinlich gemacht. — 5) Bei Verwendung frisch gewonnenen menschlichen und tierischen Immunserums, — Plasmas und Kantharidenblaseninhalts zur Agglutination ergab sich in Konzentrationen bis 1/40 fast völlige Auflösung der Bakterien. Diese Eigenschaft, zu lösen, ging im Laufe von 24 Std. verloren.

Literatur.

1) Bessau, Verhandl. d. Ges. f. Kinderheilk. Innsbruck. 1924. (Monatsschr. f. Kinderheilk. Bd. 29. 1925.) — 2) Ders., Immunbiologie der Tuberkulose. (Klin.

Wochenschr. 1925. S. 337.) — 3) Ders., Zur Frage der aktiven Schutzimpfung gegen Ruhr im Säuglings- und Kindesalter. Ref. (Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 255.) — 4) Fernbach u. Häßler, Zur Frage der Antikörperbildung in der Haut. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925.) — 5) Gänßlen, Ueber die Durchlässigkeit der Haargefäßwand beim Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1922. S. 263.) — 6) Ders., Die Blasenmethode, eine Funktionsprüfung auf Oedembereitschaft. (Ibid. 1922. S. 1176.) — 7) Ders., Ergebnisse der Blasenmethode. (Ibid. 1923. S. 1271.) — 8) Kasahara, Experimentelle Studien über die intrakutane Resorption. (Zeitschr. f. exp. Med. Bd. 44. S. 294.) — 9) Köhler u. Heilmann, Ueber vergleichende intrakutane und intravenöse Sensibilisierung des Menschen mit Kaninchenserum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. H. 2.) — 10) Krauspe, Zur Teilnahme der Haut an immunisierenden Vorgängen. (Dtsch. med. Wochenschr. 1923. S. 1291.) — 11) Neufeld u. Meyer, Ueber die Bedeutung des Reticuloendothels für die Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103. S. 595.) — 12) Neuhaus u. Prausnitz, Die Rolle der Haut bei der Bildung von Antikörpern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 444.) — 13) Pfeiffer u. Bessau, Ueber die angebliche Trennung der toxischen und immunisierenden Bestandteile des Typhusbazillus. (Ibid. Bd. 64. S. 172.) — 14) Pfeiffer u. Marx, Die Bildungsstätten der Choleraschutzstoffe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27. S. 272.) — 15) Thomas, u. Arnold, Blaseninhaltsstoffe über spezifischen Reaktionen. (Münch. med. Wochenschrift. 1922. S. 196.) — 16) Dies., Varizellenschutzimpfung. (Ibid. 1922. S. 465.) — 17) Dies., Blaseninhaltsstoffe bei angeborener Syphilis. (Ibid. 1922. S. 1178.) — 18) Dies., Weitere Untersuchungen über den Inhalt der Kantharidenblase. (Ibid. 1922. S. 1627.) — 19) Dies., Ueber Schutzwirkung des Inhalts von Kantharidenblasen. (Ibid. 1923. S. 150.) — 20) Dies., Körperfremde Stoffe in der Kantharidenblase als Maß der Durchgangsgeschwindigkeit und des Dermotropismus. (Ibid. 1923. S. 561.) — 21) Thomas, Weitere Untersuchungen über den Inhalt der Kantharidenblase. (Monatsschr. f. Kinderhlk. Bd. 24. S. 629.)

Nachdruck verboten.

Ueberempfindlichkeitsversuche am Meerschweinchen

(Modifizierte Schulz-Dalesche Methode.)

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten Robert Koch, Abteilung für Tropenkrankheiten (Dir.: Prof. Cl. Schilling).]

Von **Hermann Hackenthal**, Assistenten am Institut.

Mit 3 Kurven im Text.

I. Das zeitliche Auftreten der Ueberempfindlichkeit am mit Pferdeserum sensibilisierten Tier.

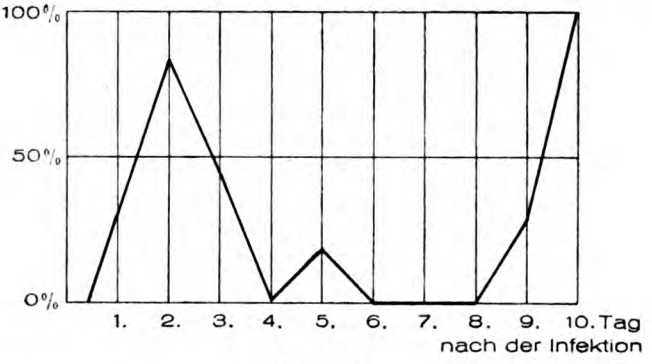
Bei Meerschweinchen, die wir subkutan mit ca. 20 mg humanen Tuberkelbazillen (Stamm Bethge) infiziert hatten und deren Därme wir nach der Schultz-Daleschen Methode am 1., 2., 3. usw. Tage nach erfolgter Infektion mit wäßrigen Auszügen aus Tuberkelbazillen (Ertuban) prüften (Literatur 1, dort Einzelheiten der Technik) ergab sich folgende Sensibilisierungskurve 1, S. 372.

Diese eigentümliche am 2. Tage auftretende und später wieder verschwindende Sensibilisierung wurde von uns als „Frühreaktion" bezeichnet (2).

Zur Klärung der Frage, ob diese Erscheinung nur der tuberkulösen Allergie zugehörig sei oder ob es sich um ein auch anderen Sensibilisierungen zukommendes, noch unerkanntes Phänomen handele, wurde zunächst die klassische Sensibilisierung des Meerschweinchens mit Pferdeserum in der bei Anaphylaxieversuchen gewohnten Art am Meerschweinchendarm geprüft.

Ein normaler Meerschweinchendarm reagiert auf Bespülung mit

frischem Pferdeserum (bis 24 Std. alt) in einer Verdünnung $^1/_{10}$ (mit Thyrodelösung) mit einer deutlichen Vermehrung der Peristaltik und oft mit einer Kontraktion. Pferdeserum $^1/_{100}$ war am normalen Tiere stets unwirksam. Am Darm des sensibilisierten Tieres (vor 20 Tagen 0,01 ccm Pferdeserum ip. gespritzt) ruft Pferdeserum 1/100 eine starke Kontraktion hervor; die obere durchschnittlich noch unwirksame Verdünnungsgrenze wurde nicht an jedem Falle untersucht, sie liegt über



Kurve 1.

1/10000. Jedenfalls ist die Wirksamkeit der Pferdeserumverdünnung 1/100 ein sicherer Indikator einer erfolgten Sensibilisierung. Die Prüfung von Meerschweinchen im Darmversuch mit dieser Verdünnung am 1., 2., 3., 4. usw. Tage nach der Einspritzung von 0,01 ccm Pferdeserum ip. ergab folgende Resultate:

Tag nach der Sensibilisier.	Zahl der Tiere	Prozentzahl der pos. Tiere	Zahl der Versuche	Durchschn.-Prozentzahl der pos. Vers.	Bemerkungen
1.	3	0	7	0	
2.	3	0	6	0	
3.	3	0	7	0	
4.	3	0	10	0	
5.	3	0	7	0	
6.	4	0	8	0	
7.	7	0	16	0	
8.	19	78,9	56	68,2	
9.	11	9,1	25	2,3	Nur bei einem Tier unt. 5 Versuchen ein pos. Resultat
10.	4	0	14	0	
11.	3	0	5	0	
12.	3	33	7	33	
14.	4	50	8	33,25	
15.	3	66	6	66	
16.	3	66	8	66	
17.	3	66	10	66	
18.	3	100	7	83,3	
19.	7	100	14	85,7	
20.	3	100	9	100	

Siehe Kurve 2, S. 373.

Es findet sich also bei der Pferdeserumsensibilisierung des Meerschweinchens eine im Darmversuch nachweisbare „Frühreaktion" erst am 8. Tage (nicht wie bei der Tuberkulose am 2. Tage). Diese verschwindet aber bemerkenswerterweise wieder: Am 9. Tage ist sie nur

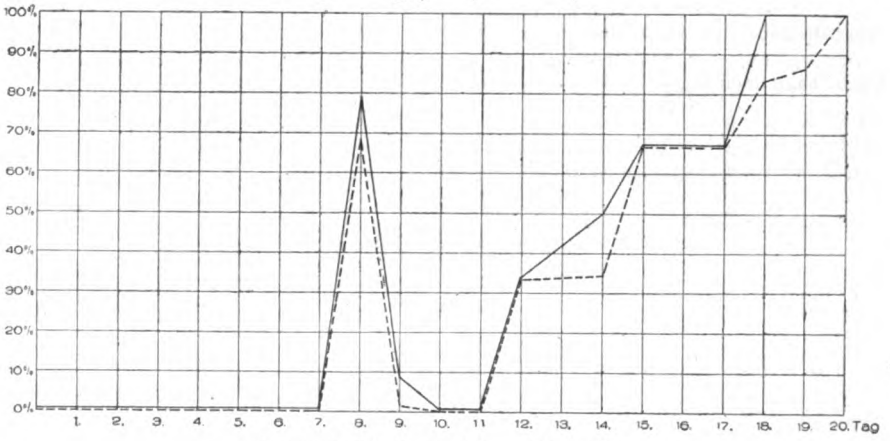
in sehr geringem Grade, am 10. und 11. Tage gar nicht mehr nachzuweisen; also auch in bezug auf diese „negative Phase" besteht eine Analogie mit den Versuchen bei der tuberkulösen Infektion.

Da die Versuchsergebnisse des 1.—6. Tages ganz eindeutig ausfielen, glaubten wir uns mit 2—3facher Kontrollierung begnügen zu dürfen. Die Zahlen der verwendeten Tiere und der Versuche am 7., 8. und 9. Tage sind so groß, daß ein Zufallsergebnis wohl auszuschließen ist. Daß vom 12. Tage an eine Sensibilisierung eintritt, ist bekannt.

Die mitgeteilten Beobachtungen gewinnen an Zuverlässigkeit wenn man bedenkt, daß das Endergebnis aus einer großen Zahl kleiner, zeitlich weit auseinanderliegender Versuchsserien zusammengesetzt ist.

Zur Feststellung der Spezifität unserer Reaktion wurden am Darm der mit Pferdeserum sensibilisierten Tiere geprüft: Kaninchen-, Rinder-, Hunde- und Hammelserum. Es ließen sich keine nennenswerten Steigerungen der Erregbarkeit gegenüber den 4 genannten Seris im

Pferdeserum-Empfindlichkeitssteigerung nach Vorbehandlung mit a, 0,01 ccm Pferdeserum-Spritzung (intraperitoneal).



------ Przozentzahl der positiven Versuche
——— „ „ „ „ Meerschw.
Kurve 2.

Vergleich zum normalen unvorbehandelten Meerschweinchen erkennen; nur bei Tieren mit außerordentlich starker Sensibilisierung gegen Pferdeserum scheint eine ganz leichte Steigerung der Empfindlichkeit gegen andere Sera vorzuliegen (Steigerung der spezifischen Empfindlichkeit um das 1000fache, der unspezifischen um noch nicht das 10fache).

Es handelt sich also nicht gemeinhin um eine Ueberempfindlichkeit gegen artfremdes Serum, sondern um eine ganz spezifische, nur mit dem zur Sensibilisierung verwendeten Serum nachweisbare Ueberempfindlichkeit. Daraus ergibt sich, daß von anderer Seite gemachte Untersuchungen über Früherscheinungen der Sensibilisierung nach parenteraler Einverleibung von artfremdem Eiweiß nur dann mit den vorliegenden Ergebnissen in Vergleich gesetzt werden können, wenn es sich um Pferdeserum-Sensibilisierungen handelt. Außerdem ist zu beachten, daß die meisten Autoren nur auf die Möglichkeit, einen anaphylaktischen Schock hervorzurufen, Rücksicht nehmen — was mit

unserer Art der Sensibilisierung nachzuweisen nur bedingt in Vergleich zu setzen ist (diese Frage soll in einer besonderen Veröffentlichung besprochen werden).

Die für die Anaphylaxie charakteristische Erscheinung der passiven Uebertragbarkeit der Sensibilisierung (2 ccm Serum des sensibilisierten Tieres werden einem normalen, unvorbehandelten Tiere subkutan oder intraperitoneal injiziert) äußert sich bei Anwendung unserer Prüfungsmethode darin, daß der Darm des mit Serum eines aktiv vor mehr als 12 Tagen mit Pferdeserum vorbehandelten Meerschweinchens passiv sensibilisierten Tieres — 24 oder 48 Std. nach der Seruminjektion geprüft — sich ebenfalls überempfindlich erweist. Auch hier ist die Reaktion ebenso streng spezifisch wie bei dem Serumspender.

Wenn man einem mit Pferdeserum (0,01 ccm) sensibilisierten Meerschweinchen nach 20 Tagen Pferdeserum reinjiziert — in Dosen, die deutliche Schockerscheinungen hervorrufen (Temperatursturz), ohne daß das Tier zugrunde geht — so behält das Serum eines solchen Meerschweinchens, auf ein neues Tier übertragen, die Fähigkeit den Darm zu sensibilisieren.

Wichtig und neu ist nun, daß auch die am 8. Tage auftretende Sensibilisierung sich passiv übertragen läßt:

Spender:		Passiv mit 2 ccm Serum
Am 8. Tage nach Injektion von 0,01 ccm Pferdeserum:		sensibilisiert
1) Meerschw. Nr. 171 +	1 a)	Meerschw. Nr. 225 —
2) „ „ 193 +	2 a)	„ „ 231 +
3) „ „ 304 +	3 a)	„ „ 337 +
4) „ „ 317 +	4 a)	„ „ 338 +
5) „ „ 318 +	5 a)	„ „ 342 —
6) „ „ 814 +	6 a)	„ „ 862 +

= 66% + passive Übertragungen am 8. Tage.

Am 7., 9., 10. und 11. Tage angestellte passive Uebertragungsversuche fielen sämtlich negativ aus. Ein derartiges vorübergehendes Auftreten spezifischer Ueberempfindlichkeit, wie wir es am 8. Tage nach der Pferdeserumvorbehandlung beobachtet haben, ist bisher meines Wissens nicht beschrieben worden — weder bei Versuchen am überlebenden Organ noch bei Schockprüfungen am aktiv sensibilisierten Tiere. Dagegen findet sich bei Otto (3) ein Versuch über passive Anaphylaxie, der zeitlich mit unseren Ergebnissen übereinstimmt: Er hatte Meerschweinchen mit Pferdeserum sensibilisiert, am 8. Tage das Serum auf ein normales Tier übertragen und bei diesem nach 24 Std. mit Pferdeserum einen anaphylaktischen Schock erzielt. Analogversuche am 5. und am 10. Tage fielen negativ aus.

Friedberger und Burkhardt (4) haben diesen Versuch ausführlicher nachgeprüft, aber Hammelserum verwendet (s. oben über Spezifität). Ihre Tabelle zeigt, daß die Ueberempfindlichkeit bei intravenöser Probe vom 7. Tage an langsam ansteigt, daß die passive Uebertragung in den ersten Tagen nur unsicher gelingt, die Schockwirkung gering ist.

Doerr und Russ (5) präparierten Meerschweinchen mit Rinderserum (!), bei der zweiter Spritzung zeigten die Tiere

nach	4	Tagen keine Erscheinungen
„	5	„ leichte Symptome
„	6	„ keine Erscheinungen
„	6,5	„ tot in 2 Minuten
„	7	„ keine Symptome
„	7	„ leichte „
„	8	„ schwere „
„	8	„ tot in 5 Minuten.

Rosenau und Anderson (6) machten denselben Versuch wie Doerr und Russ unter Verwendung von Pferdeserum und beobachteten am 4. Tage (3 Versuche), und am 5.—8. Tage (je 1 Versuch) keine anaphylaktischen Erscheinungen; am 10. und 12. Tage traten leichte Symptome auf; erst vom 12. Tage ab gingen die Meerschweinchen im akuten Schock zugrunde.

Pfeiffer und Mita (7) haben zum Nachweis der anaphylaktischen Sensibilisierung den Temperatursturz nach Reinjektion von Pferdeserum herangezogen. 2 Versuche am 5. Tage nach der ersten Injektion zeigten keine Temperatursenkung; erst vom 10. Tage ab trat eine solche ein, die am 15. und 20. Tage deutlicher wurde. Die dazwischenliegenden Tage sind nicht berücksichtigt worden. In einer anderen Versuchsreihe untersuchten dieselben Autoren zum Nachweise der Eiweiß-Antieiweiß-Reaktion die Biuretprobe. Diese trat schon am 5. Tage schwach auf, wurde am 8. Tage deutlich, ohne aber später wieder zu verschwinden.

Wenn man unsere im Darmversuch gewonnenen Ergebnisse mit den in der Pferdeserumanaphylaxieforschung festgelegten Tatsachen (Schockprüfung) vergleicht, so ergibt sich eine völlige Uebereinstimmung in folgenden 3 hauptsächlichen und charakteristischen Phänomenen:

1) Vom 12. Tage nach der sensibilisierenden Injektion an läßt sich eine immer deutlicher werdende spezifische Empfindlichkeit nachweisen. — 2) Dieselbe ist passiv übertragbar. — 3) Uebersteht nach dem 12. Tage ein Meerschweinchen einen anaphylaktischen Schock, so läßt sich mit seinem Blut ein anderes Tier passiv sensibilisieren.

Die Schultz-Dalesche Methodik des Sensibilisierungsnachweises (am Meerschweinchendünndarm) ist also gegenüber der klassischen Versuchsanordnung (Schockprüfung) gleichwertig, und zeitliche sowie prozentuale Ergebnisse gleichen einander so, daß man für die Dünndarmsensibilisierung und die Möglichkeit der Schockauslösung dieselbe Genese annehmen kann.

Bei der am 8. Tage auftretenden und wieder verschwindenden Frühreaktion ergibt sich jedoch eine Divergenz: Wohl ist der 8. Tag bei einem passiven Anaphylaxieversuche von Otto als auffallender Termin festgelegt, jedoch ist eine Schockauslösung am aktiv mit Pferdeserum sensibilisierten Tiere an diesem Tage nicht möglich, wie eine von uns in dieser Richtung geprüfte kleine Tierserie (5 Tiere) ergab. Man könnte daran denken, daß es sich bei der am Dünndarm beobachteten Frühreaktion um eine Teilsensibilisierung des Meerschweinchenorganismus, dagegen bei der Schockauslösung um eine Allgemeinsensibilisierung handelt; dem widerspricht jedoch die Ottosche Arbeit, denn wenn im Blute so viel Reaktionsprodukte kreisen, daß eine passive Sensibilisierung mit Schockauslösung möglich ist, so muß man wohl auf eine generalisierte Allergie schließen.

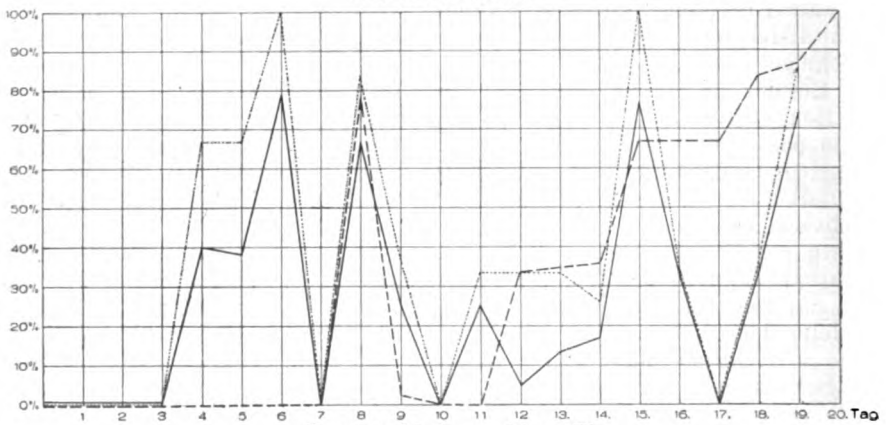
Die Tatsache, daß am 8. Tage nach der Pferdeserumvorbehandlung zwar noch kein akuter Tod im Schock zu erzielen ist, daß aber die (durch die Schultz-Dalesche Methode von uns nachgewiesene) Ueberempfindlichkeit passiv mit dem Serum übertragbar und dann (nach Otto) sogar durch die Schockprüfung nachgewiesen werden kann, sprechen dafür, daß die Frühreaktion in die Gruppe der anaphylaktischen Reaktionen gehört.

II. Ueberempfindlichkeit gegen wäßrige Tuberkelbazillenextrakte (Ertuban) nach Pferdeserumsensibilisierung.

Eine Sonderstellung nehmen die Ergebnisse ein, die sich bei der Prüfung des Darmes der mit Pferdeserum sensibilisierten Tiere mit wäßrigen Tuberkelbazillenextrakten (-Ertuban) ergaben:

Tage nach der Sensibilisierung	Zahl der Tiere	davon positiv	Proz.	Durchschnittsprozent der positiven Ertuban-Versuche	Bemerkungen
1.	3	0	0	0	
2.	3	0	0	0	
3.	3	0	0	0	
4.	3	2	66	40,8	
5.	3	2	66	38,1	
6.	4	4	100	79	
8.	7	0	0	0	
8.	18	15	83,3	66	
9.	11	4	36,4	25	
10.	5	0	0	0	
11.	3	1	33	25	
12.	3	1	33	5,6	Unter 14 Versuchen 1 zweifelhaft positiver.
13.	3	1	33	13,3	
14.	4	1	25	16,6	
15.	3	3	100	77,3	
16.	3	1	33	33	
17.	3	0	0	0	
18.	3	1	33	33	
19.	7	6	85,7	73,7	

Ertuban-Empfindlichkeit mit Pferdeserum 0,01 ccm intraperitoneal gespritzter Meerschweinchen.



------ Prozentzahl der positiven Tiere
——— " " " Versuche
– – – Pferdeserumempfindlichkeit.

Kurve 3.

Daß diese eigentümlichen Ergebnisse durch irgendeine Abnormität des serumspendenden Pferdes bedingt sein könnten, ist sehr unwahrscheinlich; es wurden 2 Pferde benutzt: Tier Nr. 1 aus dem Institut für Infektionskrankheiten R. Koch, Berlin, zeigte im Laufe der jahrelangen Beobachtung nie irgendwelche Krankheitserscheinungen; Tier Nr. 2 ist im Landesveterinäruntersuchungsamt Berlin stationiert und nach Angaben von Prof. Lührs in jeder Beziehung als gesund zu betrachten, selbst die mehrfach geprüfte Alttuberkulinempfindlichkeit der Haut (Mendel-Mantoux) fiel stets negativ aus. Ein Unterschied in der Serumwirkung zwischen den beiden Tieren ergab sich nicht; allerdings muß erwähnt werden, daß eine der von Tier Nr. 2

sensibilisierten Meerschweinchenserien völlig negativ ausfiel, wofür wir keine Erklärung finden konnten; natürlich sind die Resultate mitverwertet, so daß bei einer eventuellen Nachprüfung wahrscheinlich noch höhere Prozentzahlen herauskommen würden.

Aus der Tabelle und der graphischen Darstellung der Empfindlichkeit gegen wäßrige Tuberkelbazillenextrakte (Ertuban) ist ersichtlich, daß die ‚Mitsensibilisierung' wellenförmig auftritt. Der zeitliche Verlauf der Darmempfindlichkeit gegen Ertuban und gegen Pferdeserum ist aber voneinander unabhängig, in einem beliebig ausgewählten Zeitpunkt kann die Ertubanprüfung positiv, die Pferdeserumprüfung negativ ausfallen und umgekehrt. Das Maximum der Ertubanempfindlichkeit fällt nicht mit der Pferdeserumfrühreaktion zusammen. Auf Grund dieser Feststellungen und der oben angeführten Versuche betreffs der Spezifität der Pferdeserumempfindlichkeit erscheint ‚Unspezifische Eiweißüberempfindlichkeit' als Erklärung der eben geschilderten Ertubanempfindlichkeit nicht hinreichend; sonst müßten die beiden Kurven parallel laufen.

III. Pferdeserumempfindlichkeit des tuberkulös infizierten Meerschweinchens.

Es wurde nun umgekehrt geprüft, ob bei massiver tuberkulöser Infektion des Meerschweinchens (20 mg subkutan; Darmversuch am 1., 2., 3., 4. usw. Tage nach der Infektion) eine Ueberempfindlichkeit gegen Pferdeserum auftritt:

Tag nach der Inf.	Zahl der geprüften Tiere	Ertuban	Pferdeserum	Bemerkungen
		von den Versuchen waren + %	Empfindlichkeit gesteigert %	
1.	1	0	0	
2.	3	71,6 % 100 % der Tiere +	100 %	
3.	2	0	0	
4.	2	0	0	
5.	2	35 % (1 Tier positiv)	0	Spontantuberkulose?
6.	2	0	0	
7.	2	0	0	
8.	4	0	0	
9.	2	40 % (1 Tier positiv)	0	
10.	2	73 %	0	
11.	1	50 %	0	
12.	3	76,6 %	33 %	

Wie aus den Resultaten vom 9. Tage an ersichtlich ist, dürfte es sich auch hier nicht um eine „unspezifische Eiweißüberempfindlichkeit" handeln, denn am 9., 10., 11. Tage besteht eine sichere Ertubanempfindlichkeit, ohne daß mit Pferdeserum 1/100 eine Darmreaktion zu erzielen wäre.

Die Kurve stimmt jedoch in den ersten 8 Tagen genau mit der Kurve Nr. 1 überein: die tuberkulöse Infektion sensibilisiert den Dünndarm vorübergehend nicht nur für Extraktivstoffe aus Tuberkelbazillen sondern auch für Pferdeserum. Betreffs der Frage, inwieweit die tuberkulöse Frühreaktion als spezifisch anzusehen ist, sind Versuche angesetzt; ihre Ergebnisse werden wir später mitteilen.

Zusammenfassung.

1) Spritzt man Meerschweinchen mit 0,01 ccm Pferserum (ip.), so tritt bei ca. 80 Proz. der Tiere am 8. Tage eine nach der Schultz-Daleschen Methode nachweisbare Sensibilisierung ein, die am 9., 10. und 11. Tage nicht mehr nachzuweisen ist; vom 12. Tage an tritt dann die aus der klassischen Anaphylaxie bekannte Dauersensibilisierung auf. — 2) Diese wieder verschwindende „Frühreaktion" ist passiv übertragbar. — 3) Die Infektion des Meerschweinchens mit Tuberkelbazillen erzeugt am Dünndarm eine Ueberempfindlichkeit sowohl gegen wäßrige Tuberkelbazillenextrakte (Ertuban) als auch gegen Pferdeserum. Beide Kurven zeigen insofern zeitliche Uebereinstimmung, als gleichzeitig mit der beschriebenen Frühreaktion am 2. Tage nach der Tuberkulösen Infektion eine Ueberempfindlichkeit des Darmes gegen Pferdeserum eintritt. — 4) Umgekehrt ruft Pferdeserum eine gewisse Allergie gegen Tuberkelbazillenextrakte hervor; jedoch sind hier die Kurven in ihrem zeitlichen Verlauf unabhängig voneinander.

Literatur.

1) Schilling, Cl. u. Hackenthal, H., Ueberempfindlichkeitsversuche mit wässerigen Extrakten nach der Schultz-Daleschen Methode. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 104. H. 4.) — 2) Schilling, Cl., Neue Reaktionen an mit Tuberkulose infizierten Meerschweinchen. (Arb. a. d. R.-G.-A. 1926. Festband.) — 3) Otto, Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit. (Münch. med. Wochenschrift. 1907. S. 1665.) — 4) Friedberger u. Burckhardt, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 4. 1910. S. 690. — 5) Doerr u. Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 2. 1909. — 6) Rosenau u. Anderson, Public Health and Marine Hospital Service Un. St. (Hygien. Laborat. Bulletin. 1906. Nr. 29.) — 7) Pfeiffer u. Mita, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1910. S. 18.

Nachdruck verboten.

Geschichtliches zum Aufsatze E. Friedbergers in diesem Centralblatt Band 99, Heft 1, 3 über kryptantigenes Virus.

Von **R. Kraus**, Wien.

In diesem Aufsatz stellt Friedberger die Behauptung auf, daß er als erster bei einer Infektion, bei der ein Bakterium (Typhusbazillen) als Krankheitserreger vom Anfang an anerkannt ist, über dessen ätiologische Bedeutung bei niemandem ein Zweifel herrschen kann, nachgewiesen hat, daß der Keim im Organismus eine unsichtbare und unzüchtbare Form, d. h. den Charakter eines Virus annehmen kann.

Demgegenüber stelle ich folgendes fest: Als erster hat A. Fontes im Jahre 1910 in den Memorias do Instituto Oswaldo Cruz mitgeteilt, daß er mit Filtraten, gewonnen aus tuberkulösem Eiter, Meerschweinchen infizierte und auch tuberkulöse Prozesse hervorrufen konnte. Danach hat wohl als erster nicht Friedberger, sondern Fontes nachgewiesen, daß bei einer bakteriellen Infektion, Bakterien (Tuberkelbazillen) eine unsichtbare und unzüchtbare Form, also den Charakter eines Virus annehmen. Die Befunde von Fontes wurden 1922 durch Kirchenstein (Ann. Pasteur) und im Jahre 1923 von Vaudremer, Hauduroy und Vaudremer (Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 89) bestätigt. Weitere Arbeiten darüber sind in den letzten Jahren von Besançon und Philibert, I. Valtis u. a. mitgeteilt

worden. Damit ist bewiesen, daß Friedberger nicht das Recht hat, die Priorität für sich in Anspruch zu nehmen, auch dann nicht, wenn er tatsächlich den exakten Beweis hierfür erbracht hätte.

Der Versuch von Friedberger, den er 1923 mitgeteilt hat und der bisher in der Literatur ohne Nachprüfung ist, läßt wohl auch andere Deutungen zu als diejenigen, die ihm Friedberger gibt.

Friedberger infiziert Meerschweinchen mit Organen eines menschlichen Typhusfalles und kann durch Vorbehandlung mit Organen der Meerschweinchen in weiteren Passagen bei Kaninchen Agglutinine für Typhus erzeugen. Aus dieser Feststellung, und daraus, daß in den Organen der Passagetiere Typhusbazillen kulturell nicht nachweisbar sind, schließt er, daß ein Virus vorhanden sein müsse, welches Agglutinine für Typhusbazillen hervorruft, ebenso wie das Gehirn der mit Flecktyphusvirus infizierten Meerschweinchen (Weil-Felix). Diese Versuche Friedbergers würden diese Behauptung wohl beweisen, wenn es ihm gelungen wäre, die Beweiskette zu schließen und aus den Filtraten der Organe, welche das invisible Virus enthalten sollen, Typhusbazillen in Kulturen zu erhalten. Erst dann hätte Friedbergers Versuch die Behauptung gerechtfertigt, daß der Typhusbazillus den Charakter eines Virus annehmen könne.

Diesen Beweis dürften aber erst spätere Arbeiten, namentlich die von Fejgin (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1925), erbracht haben. Wenn ich noch anführe, daß bereits englische Autoren, Hort und Ingram, vor Jahren ähnliche Ideen geäußert haben und beim Flecktyphus ein sichtbares und unsichtbares Virus angenommen haben, hätte ich damit die geschichtlichen Daten, die Friedberger nicht anführt, erschöpft.

Die Theorie, daß sichtbare Mikroorganismen (Protozoen) in ihrem Entwicklungsstadium invisible Formen annehmen können, hat zuerst Schaudinn aufgestellt. Für die Richtigkeit dieser Annahme dürften bei Trypanosomen und Spirochäten heute wohl sichere Beweise vorliegen. Auf Bakterien (Tuberkel-, Dysenterie-, Typhusbazillen) ist diese Lehre erst durch Fontes und andere Autoren in der jüngsten Zeit ausgedehnt worden. Vorausgesetzt, daß die Filtrationsversuche einwandfrei sind, dürfte diese Lehre auch hier ihre Bestätigung finden.

Nachdruck verboten.

Zur Bestimmung der Keimzahl bakterieller Impfstoffe.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz (Vorstand: Prof. W. Prausnitz).]

Von Dr. **Leo von Wikullil,** Assistent am Institut.

Mit 1 Abbildung und 1 Kurve im Text.

Zur Bestimmung des Keimgehaltes von Bakterienaufschwemmungen werden die verschiedensten Methoden (Wright, Fries, Ermittelung der Keimzahl durch Plattenkulturen, Auszählung der Keime in der Zählkammer, Bestimmung des Trockengewichtes und die Feststellung des Trübungsgrades durch Nephelometer und Turbidometer) verwendet. Bei den Turbidometern und Nephelometern wird meistens versucht, aus dem Vergleich mit den entsprechenden Standardlösungen, bzw. Aufschwemmungen den Bakteriengehalt der zu untersuchenden Auf-

schwemmung festzustellen. Hierher gehört auch das von Gates 1920 angegebene Verfahren, zu dem im folgenden versucht wird, einerseits die theoretischen Grundlagen nachzutragen, andererseits durch Verwendung einer genaueren Apparatur allen Verhältnissen möglichst Rechnung zu tragen, Fehlerquellen auszuschließen und die entsprechenden Folgerungen zu ziehen.

Um möglichst genau zu bestimmen, in welchem Verhältnis die Trübung mit der Zunahme des Bakteriengehaltes zunimmt, wurde folgender Apparat konstruiert:

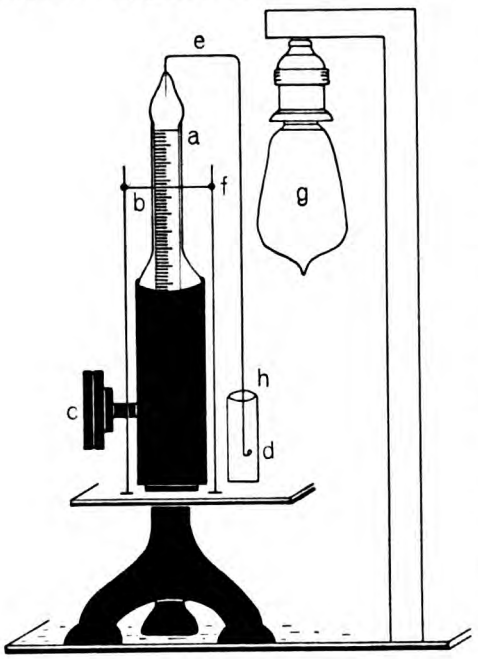


Fig. 1.

In den Tubus eines Mikroskops für schwache Vergrößerung wurde an Stelle des Okulars ein flaches Butyrometer (a), wie sie bei der Gerberschen Fettbestimmung gebraucht werden, eingesetzt, in dessen flachen Schenkel ein Streifen mit einer Millimetereinteilung (b) geschoben wurde. Am Ende dieses flachen Schenkels wurde ein Chromdraht (e) eingeschmolzen, der, 2mal rechtwinklig gebogen, am freien Ende eine Oese (d) trägt. Bewegungen der Stellschraube (c) rufen Auf- und Abwärtsbewegungen der Oese hervor, deren Größe durch die feste Marke (f) gemessen werden kann. Eine fixierte Milchglaslampe (g) und ein kleines Gestell zum Aufsetzen des in einer lichtundurchlässigen Hülse befindlichen, mit flachem Boden ausgestatteten Reagenzgläschen (h) zur Aufnahme der Bakterienaufschwemmung vervollständigen die Apparatur.

Verwendet wurden zuerst für die Versuche, welche die Feststellung bezweckten, ob und in welchem Maße die Möglichkeit vorhanden ist, aus dem Trübungsgrade auf die Keimzahl zu schließen, in der Zählkammer gezählte Hefeaufschwemmungen in physiol. Kochsalzlösung, bzw. deren Verdünnungen. Später wurde zu Kontrollzwecken mit anderen Keimen gearbeitet, Versuche, die zu den prinzipiell gleichen Ergebnissen führten, und daher hier nicht näher angeführt sind.

Als Trübungsgrad wurde die Eintauchtiefe der Oese angesehen, d. h. es wurde jene Distanz gemessen, die zwischen dem Berührungspunkte der Oese mit dem Flüssigkeitsspiegel und jenem Punkte liegt, an dem die Oese verschwindet, bzw. für das Auge gerade noch sichtbar ist. Der 1. Punkt ist leicht zu bestimmen, während für die exakte Feststellung des 2. Punktes einige Uebung erforderlich ist. Am besten mißt man so, daß man den Punkt feststellt, an dem die sich senkende Oese verschwindet, bzw. die über diesen Punkt tiefer eingesenkte Oese, nach

oben zu gehoben, wieder erscheint. Ein Zusammenfallen dieser Punkte bestätigt die Richtigkeit der Messung.

Die wiederholte Prüfung verschiedener Hefeaufschwemmungen ergab für die oben erwähnte Eintauchtiefe folgende Mittelwerte:

Keimzahl	Eintauchtiefe
10 000 000 in 1 ccm	2·05
20 000 000 „ 1 „	1·15
30 000 000 „ 1 „	0·85
40 000 000 „ 1 „	0·70
50 000 000 „ 1 „	0·61

Ich möchte gleich an dieser Stelle bemerken, daß diese Zahlen relative sind und von der Stärke der Beleuchtungsquelle, von deren Entfernung vom Flüssigkeitsspiegel, vom Einfallswinkel des Lichtes, von der Aufschwemmungsflüssigkeit und nicht zum wenigsten von der Sehschärfe des Beobachters abhängen, aber bei gleichem Beobachter und gleicher Versuchsanordnung fast konstante sind. Um jede Fehlerquelle durch ungleiche Beleuchtung zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Messungen in der Dunkelkammer durchzuführen.

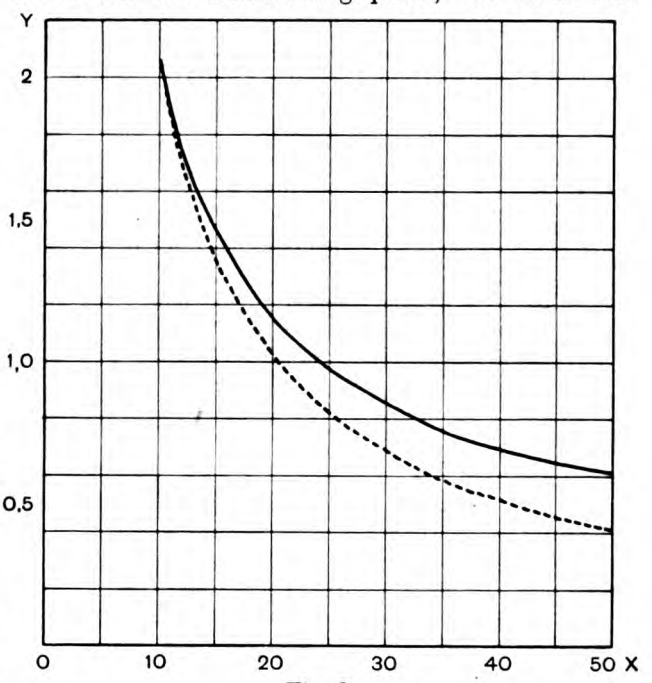


Fig. 2.

Aus den oben angeführten Zahlenwerten und aus der angeführten Zeichnung (Fig. 2) ist ersichtlich, daß die Bakterienzahl x und die Eintauchtiefe y nicht umgekehrt proportional erscheinen, d. h. ein doppelt so großes x reduziert das y nicht auf die Hälfte, daß also das Verhältnis graphisch dargestellt keine Gerade ergibt, sondern sich in Form einer Kurve (siehe Figur 2 ausgezogene Linie) darstellt, die eine Aehnlichkeit mit einer gleichseitigen Hyperbel hat. Wenn diese Kurve eine gleichseitige Hyperbel wäre, müßten die Produkte aus x mal y nach der Gleichung $x\,y = K$ konstante Größen sein. Eine kurze Berechnung zeigt jedoch, daß diese Produkte aus x y nicht konstante Größen sind, sondern mit zunehmender Keimzahl sich vergrößern.

10mal 2·05 . . . 20·5
20 „ 1·15 . . . 23·0
30 „ 0·85 . . . 25·5
40 „ 0·70 . . . 28·0
50 „ 0·61 . . . 30·5

Wählte man z. B. den Punkt x = 10, y = 2'05 und würde man annehmen, daß dieser Punkt auf einer gleichseitigen Hyperbel liegen würde, deren Gleichung xy = 20'5 sein müßte, so sieht man, daß diese gleichseitige Hyperbel immer mehr und mehr von unserer Kurve, die den beobachteten Werten entspricht, gegen die Abszissenachse abweicht, d. h. das y wird bei zunehmender Keimzahl nicht in dem gleichen Verhältnis kleiner, wie es bei einer gleichseitigen Hyperbel wäre. In der Figur ist die gleichseitige Hyperbel gestrichelt, im Gegensatz zur vollgezogenen Kurve mit den beobachteten Werten. In der folgenden Tabelle wird versucht, eine Zusammenfassung der Verhältnisse zu geben:

x	y	xy	y'	xy'	xy − xy'
10	2·05	20·05	2·05	20·5	0
20	1·15	23·0	1·025	20·5	2·5 = 2·5·1
30	0 85	25·5	0·683	20·5	5·0 = 2·5·2
40	0·70	28·0	0·5125	20 5	7·5 = 2 5 3
50	0·61	30 5	0·41	20·5	10·0 = 2 5·4

Die Konstante 2.5 reduziert sich, da 10 als Einheit angenommen wurde, auf 0.25, und kann man dann die Beziehung zwischen xy und xy' in der Gleichung xy = 0·25 (n − 10) + xy' ausdrücken, da die x die Reihe 1, 2, 3 . . . . n, die Differenz zwischen xy—xy' die Reihe 0, 1, 2, 3 . . . . n—1 bilden, und da n = x ist, kann man schreiben xy = 0·25 x − 2·5 + xy' oder, da xy' = 20·5 ist, xy = 0·25 x + 18 eine Gleichung, die ihren allgemeinen Ausdruck in der Formel xy'—cx=K findet. Unsere Kurve ist somit eine Hyperbel, die sich von der gleichseitigen Hyperbel durch den Ausdruck cx unterscheidet. Daß diese Formel allgemein für unsere Kurve gültig ist, beweist das Einsetzen der entsprechenden Zahlenwerte für x und y.

Um auch den theoretischen Beweis für diese empirisch gefundenen Formel liefern zu können, müssen wir uns klar sein, daß wir es nicht mit einem homogenen Medium, sondern mit einer Aufschwemmung kleinster Teilchen zu tun haben und das Licht nicht nur mit der Dichte des Mediums abnimmt, sondern von den einzelnen Teilchen auch reflektiert wird. Es darf in solchen Aufschwemmungen nicht nur die Dichte des Mediums, sondern auch das von den einzelnen Teilchen reflektierte Licht, die seitliche Strahlung noch in Betracht gezogen werden.

Lord Rayleigh findet für die seitliche Strahlung die Beziehung: γ.

$$J = Jo \frac{9\pi^2 \sin^2\alpha}{\lambda^4 r^2} \cdot \tau^2 \cdot \frac{(\mu^2-\mu_1^2)^2}{(\mu^2-2\mu_1^2)_2},$$

wobei Jo das beleuchtende, J das seitlich ausgestrahlte Licht in der Entfernung r vom Teilchen, unter dem Winkel α gegen die Schwingungsebene gesehen, λ die Wellenlänge im Medium, τ das Teilchenvolumen, μ den Brechungskoeffizient des Mediums, μ_1 den der Teilchensubstanz bedeutet. Diese Formel gilt aber nur für kleinste Teilchen und ist für Teilchen von Bakteriengröße nicht ohne weiteres anwendbar, da sich mit zunehmender Größe der Teilchen verschiedene Bedingungen ändern.

Nach den Versuchen von Karl v. Angerer ergibt sich für Teilchen von Bakteriengröße nach Einführung des Begriffes Z = Zahl der Bakterien, die Formel $K = Z.D^2$ für die seitliche Strahlung, d. h. sie hängt von der Zahl und dem Durchmesser der Teilchen ab.

Aus dem oben Gesagten geht hervor, daß für die Eintauchtiefe nicht nur das einfallende Licht in Betracht kommt, sondern auch das von den Teilchen reflektierte Licht, die seitliche Strahlung, und sind

beide, das einfallende Licht und die seitliche Strahlung abhängig von der Zahl der suspendierten Teilchen, denn es müssen bei verschieden dichten Aufschwemmungen gleicher Bakterienarten beide verschieden schnell abnehmen. Also muß sich die Lichtstärke an einem bestimmten Punkte aus $J+Jo$ zusammensetzen und bezeichnen wir die Entfernung dieses Punktes von der Oberfläche mit y, so ist $y=J+Jo$, wobei $J=\frac{K}{x}$ und $Jo=\frac{xD^2}{x}$ ist. Für D^2 kann, da wir ja nur Aufschwemmungen gleicher Bakterienarten untereinander vergleichen und sich kleine Differenzen unter den einzelnen Bakterien durch die Masse ausgleichen, c als Konstante gesetzt werden. Es ergibt sich also die Gleichung $y=\frac{K}{x}+\frac{xc}{x}$ bzw. $xy-cx=K$, die mit der soeben empirisch gefundenen Gleichung identisch ist.

Es erscheint also notwendig, für jede Bakterienart, um laufende Messungen durchführen zu können, die beiden Konstanten k und c zu bestimmen. Dies geschieht am einfachsten, indem man bei 3 in ihrer Dichte möglichst weit auseinander liegenden Aufschwemmungen die Eintauchtiefe bestimmt, wobei zwei y-Werte mit den entsprechenden x-Werten zur Errechnung der Konstanten k und c dienen, während der dritte y Wert zur Kontrolle der gefundenen Größen für k und c verwendet wird. Es wären z. B. bekannt, die Werte y 50 = 0′61 y 10 = 2′05, so folgt, da die entsprechenden x-Werte 50 und 10 sind, die Gleichungen $50\cdot0{,}61-50\ c=k$ und $10\cdot2{,}05-10\ c=K$, diese einander gleichgesetzt $50\cdot0{,}61-50\ c=10\cdot2{,}05-10\ c$ ergeben für c den Wert 0′25 und daraus folgt $50\cdot0{,}61-50\cdot0{,}25=K$ und für K = 18. Eine Kontrollprobe mit den Werten y = 30 y = 0′85 zeigt aus der Gleichung $0{,}85\ x-0{,}25\ x=18$ die Richtigkeit der Konstanten bzw. die Richtigkeit der Messungen.

Zum Schlusse noch einige Versuche, die die recht gute Verläßlichkeit der Methode, eine entsprechende Uebung und Genauigkeit voraussetzt, dartun: Von einer 3. Person wurden Bakterienaufschwemmungen bereitet und ihrem Keimgehalt nach in der Zählkammer bestimmt; es ergaben die nach dieser Methode bestimmten Keimzahlen mit den in der Zählkammer festgestellten folgende Uebereinstimmungen:

Gezählte Zahl						Gefundene Zahl					
15·62	Millionen	Hefe	in	1	ccm	17·16	Millionen	Hefe	in	1	ccm
18·85	„	„	„	1	„	18·85	„	„	„	1	„
12·5	„	„	„	1	„	13·00	„	„	„	1	„
10·0	„	„	„	1	„	11·5	„	„	„	1	„
21·0	„	„	„	1	„	20·0	„	„	„	1	„
10·0	„	„	„	1	„	10 0	„	„	„	1	„
25·0	„	„	„	1	„	26·0	„	„	„	1	„
16	Milliard.	Kokk.	„	1	„	15·87	Milliard.	Kokk	„	„	„
8	„	„	„	1	„	8·7	„	„	„	„	„
4	„	„	„	1	„	4·38	„	„	„	„	„

Zur Technik der Untersuchung möge noch hinzugefügt werden, daß es zur Kontrolle immer angezeigt ist, von der gegebenen Aufschwemmung eine um die Hälfte verdünnte Kontrollprobe zu machen, um das Uebereinstimmen der beiden Resultate feststellen zu können.

Es kann also auf Grund der obigen Untersuchungen festgestellt werden, daß zwischen der Keimzahl und der Dichte der Aufschwemmung eine Beziehung vorhanden ist, die sich in der Formel $xy = k + cx$ darstellt, und das Verfahren, aus der Trübung auf Keimgehalt bakterieller Impfstoffe zu schließen, gut brauchbar ist.

Literatur.

1) Dold, Kritische Betrachtungen über die Bestimmung und Bewertung der Keimzahl bakterieller Impfstoffe (Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 1851.). — 2) v. Angerer, Ueber das optische Verhalten von Bakterien. (Arch. f. Hyg. 1923. S. 14.) — 3) Gates, A method of standardizing bacterial suspensions. (Journ. Experim. Med. 1920. p. 105.)

Nachdruck verboten.

Ein leicht improvisierbarer Apparat zur Entnahme grösserer Blutmengen.

[Aus dem Staatlichen Epidemiologischen Institute in Novisad (S. H. S.) (Dir.: Dr. A. Hempt).]

Von Dr. **Peter Schwarz,**
Vorstand der Bakteriologisch-Serologischen Abteilung.

Mit 1 Abbildung im Text.

Während der hierorts herrschenden Scharlachepidemie hat es sich als notwendig erwiesen, Rekonvaleszentenserum zu sammeln, und zwar nicht nur im Krankenhause, sondern auch bei den in häuslicher Pflege befindlichen Patienten. Zu diesem Zwecke hat sich meine weiter unten beschriebene Improvisation als vorzüglich erwiesen, und zwar aus folgenden Gründen:

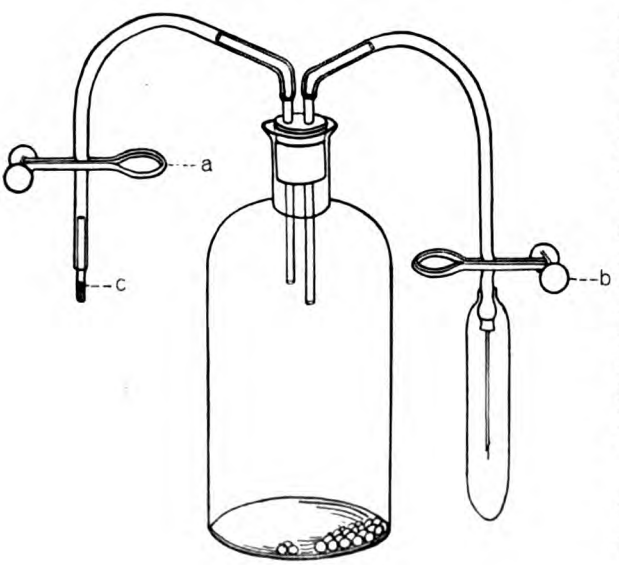


Fig. 1.

1) Vermeidung des unbequemen Auskochens der Spritzen vor der Entnahme des Blutes in Privathäusern. — 2) Zeitersparnis. — 3) Bequemere Handhabung. — 4) Größere Gewähr sterilen Arbeitens. — 5) Größtmöglichste Billigkeit. — 6) Unabhängigkeit von der Größe der zur Verfügung stehenden Spritze, da mit dem Apparat beliebig große Blutmengen zu entnehmen sind.

Der Apparat besteht, wie aus der Abbildung ohne weiteres ersichtlich ist, aus einer Glasperlen enthaltenden Flasche, die mit doppelt durchbohrtem Gummistöpsel verschlossen ist, durch welchen 2 kurze Glasröhren in die Flasche hineinragen. Die eine Glasröhre wird mittels Gummischlauches mit einer scharfen Kanüle, die in doppeltes Filterpapier eingehüllt ist, luftdicht armiert. Die Hülle wird mit Schnur am Ansatz der Kanüle befestigt.

Die andere Glasröhre, deren in die Flasche ragender Teil kürzer ist, ist gleichfalls mit ca. 20 cm langem Gummischlauch und daran befindlichem Glasröhrchen, das mit nicht entfetteter Watte verschlossen ist, montiert.

Der Apparat wird im Autoklaven $^1/_2$ Std. lang bei $^1/_2$ Atm. sterilisiert und nach der Herausnahme aus dem Autoklaven bei *a* und *b* mit guten Quetschhähnen verschlossen. Wenn die Verbindungen nicht ganz zuverlässig luftdicht verschlossen erscheinen, kann dies mittels Paraffins erreicht werden.

Zur Vermeidung des geringen Niederschlages, der während der Sterilisation im Autoklaven an der Flaschenwand entsteht (und der bei der Entnahme des Rekonvaleszentenblutes gar nicht störend wirkt), kann die Flasche mit Wattebäuschchen verschlossen im Heißluftsterilisator, die anderen Teile des Apparates im Autoklaven sterilisiert werden. In diesem Falle ist aber eine neue Infizierungsquelle für den Apparat gegeben (beim Zusammenlegen der getrennt sterilisierten Teile). Mit etwas Uebung kann aber auch diese Machination mit zuverlässiger Asepsis ausgeführt werden.

Unmittelbar vor dem Gebrauche wird bei *c* die Luft mit dem Munde aus der Flasche gesogen, unter Oeffnen des Quetschhahnes *a*. Wenn die Flasche genügend luftleer erscheint, was an dem infolge des äußeren atmosphärischen Druckes erfolgenden Zusammenklappen der Gummischläuche zu erkennen ist, wird *a* geschlossen.

Nach der Reinigung der Haut an der Einstichstelle (Kubitalvene), wird die die Kanüle schützende Hülle und der Mandrin entfernt, die Kanüle eingestochen und Quetschhahn *b* geöffnet, worauf das Blut in starkem Strome in die Flasche fließt. Im Falle des Nachlassens des Blutstromes kann bei *c* eine beliebige Menge nachgesogen werden.

Der Apparat ist selbstredend zur Blutentnahme bei Tieren ebenso geeignet.

Nachdruck verboten.

Die Färbung der Paschenschen Körperchen durch Versilberung.

[Aus dem zentralen staatlichen Pockeninstitut (Z. S. P. J.) des Volkskommissariats für Gesundheitspflege NSSR.]

Von **M. A. Morosow**, Direktor des Instituts.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Eine der charakteristischen Eigenschaften der Paschenschen Körperchen ist ihre schlechte Färbung mit den in der Mikrobiologie üblichen Methoden, da dieselben nicht auf der Anwendung von Beizen be-

ruhen. Die einzige, für die Praxis taugliche Methode ist diejenige nach Paschen (Loefflersche Beize, Ziehlsches Karbolfuchsin); aber auch diese hat ihre Nachteile, die darin bestehen, daß die Herstellung der Reagentien mit Schwierigkeiten verbunden ist. Gute Resultate erhält man nach meinen Beobachtungen mit der von mir modifizierten Methode von Fontana Tribondeau. Ein dünner Ausstrich des Pockenrohstoff wird an der Luft getrocknet, dann für 10—15 Min. in eine vertikale Kuvette mit destill. Wasser gebracht und, nachdem es wieder getrocknet, mit ca. 15 Tropfen der Lösung A bedeckt. Die Lösung A besteht aus: 1 ccm Essigsäure, 2 ccm 40proz. Formalin, 100 ccm destill. Wasser. Nach 1 Min. wird die Lösung abgegossen, mit Wasser abgespült und mit der Lösung B gebeizt (die Lösung B enthält: 1 ccm Karbolsäure, 5,0 g Tannin, 100 ccm destill. Wasser), indem das Präparat bis zum Aufsteigen von Dämpfen 30—60 Sek. erwärmt wird (die Beize nicht bis zum Sieden erhitzen). Darauf folgt ein 30 Sek. langes Spülen im Wasser und dann die Versilberung. Die Herstellung der Silberlösung nach der Methode von Fontana Tribondeau ist sehr schwierig, daher gehe ich wie folgt vor: ich fülle ein Reagensglas mit 20 ccm destill. Wasser, gebe dazu eine kleine

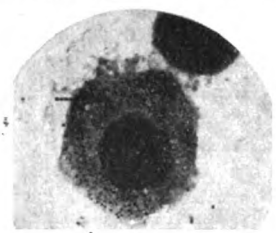


Fig. 1.

Fig. 2.

Platinöse 25proz. Ammoniak und füge dann tropfenweise aus einer Pipette 10proz. Silbernitrat dazu. Bei dieser Anordnung ist es leicht, den Anfang und das Ende der Reaktion zu beobachten: es bildet sich ein wolkiger Niederschlag, der infolge eines winzigen Silberüberschusses eine leichte Opaleszenz zeigt. Der Verbrauch an Silbernitratlösung beträgt dabei ca. 0,5 ccm, was dem von 0,25 Proz. entspricht (bei stärkerer Konzentration von Silbernitrat erhält man keine guten Präparate).

Die so zubereitete Silberlösung wird auf den Objektträger gebracht und ca. 1—2 Min. erwärmt, bis eine Braunfärbung, stellenweise eine Schwärzung eintritt, das Präparat wird dann im Wasser abgespült und mikroskopisch untersucht. Die Paschenschen Körperchen erscheinen unter dem Mikroskop ziemlich grob und schwarz und sind auf dem hellen, manchmal sogar durchsichtigen Fond gut zu sehen.

Die Herstellung eines solchen Präparates dauert einige Min., die Untersuchung ist angenehm und für das Auge nicht ermüdend, wie das bei der Fuchsinfärbung der Fall ist. Unter Paraffinölverschluß sind solche Präparate jahrelang haltbar. Dagegen lösen Xylol, Kanadabalsam und Zedernöl das Silber auf und entfärben dadurch das Präparat.

Diese Methode eignet sich besonders gut für das Studium der Beziehungen der Paschenschen Körperchen zu den Epithelien. Zu

diesem Zwecke eignet sich am besten die Hornhaut des Meerschweinchens. Es werden in die Hornhaut einige Ritze gemacht und mit frischer und womöglich bakterienfreier Lymphe geimpft. Nach 3× 24 Std. wird die Hornhautoberfläche mit einer Platinöse leicht massiert und von der dabei sich angesammelten trüben Flüssigkeit 2—3 Oesen in Form eines dicken Tropfens auf einen Objektträger gebracht und, wie oben beschrieben, gefärbt. Die Paschenschen Körperchen erscheinen auf braunem Fond schwarz in Gestalt von dichten Anhäufungen; stellenweise haften sie sogar als eine Schicht den Epithelzellen an.

Nachdruck verboten.

Ein verbesserter Thermoregulator.

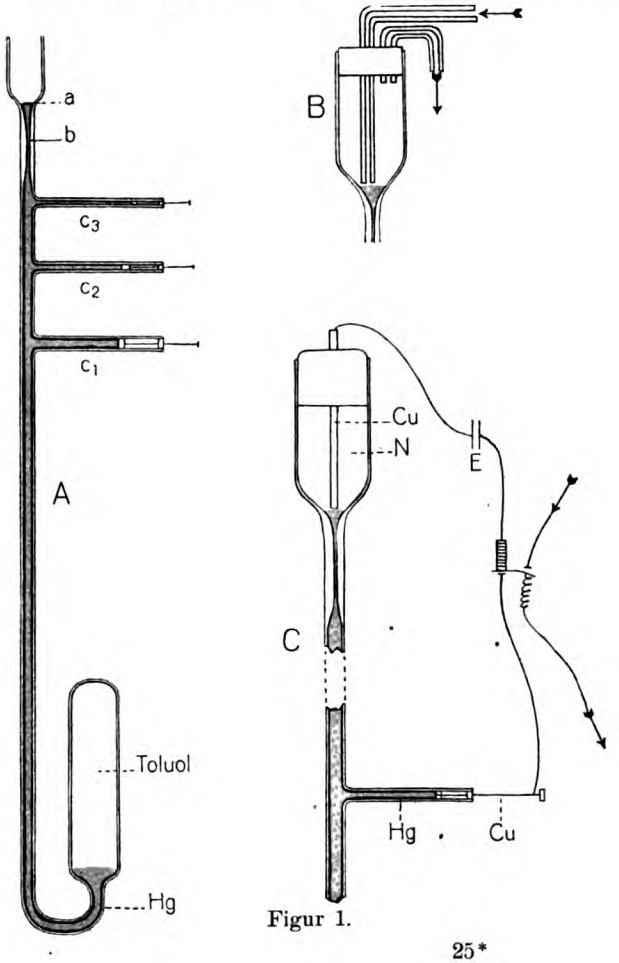
Von Dr. phil. **Väinö Krohn**, Helsinki (Finnland).

Mit 1 Abbildung im Text.

Ein guter Thermoregulator muß 1) sehr empfindlich gegen Temperaturschwankungen sein, 2) eine große Reaktionsgeschwindigkeit besitzen und 3) einfach und rasch auf verschiedene Temperaturen eingestelt werden können.

Bei den jetzt gebräuchlichen Regulatoren sind jedoch entweder die unter 1) und 2) oder die unter 3) genannten Eigenschaften mangelhaft. Der hier beschriebene abgeänderte Thermoregulator zeigt eine Kombination aller erforderlichen Eigenschaften:

1) Eine große Empfindlichkeit gegen Temperaturschwankungen wird durch das Kapillarröhrchen b erzielt, in dem schon ein minimaler Temperaturunterschied (in Bruchteilen eines Grades) ein beträchtliches Steigen des Hg verursacht.



Figur 1.

— 2) Die Reaktionsgeschwindigkeit ist groß, da der Gas- oder der elektrische Strom durch die leichtbewegliche Hg-Menge in a entweder geschlossen oder unterbrochen wird. — 3) Der Regulator ist durch die mit Schrauben und Kolben versehenen und fertig graduierten Seitenröhren leicht regulierbar, so daß man ihn nach Belieben auf jede Temperatur einstellen kann, wobei ein Abstand in C_1 10^0, in C_2 1^0 und in C_3 $^1/_{10}{}^0$ entspricht.

Bei der Anfertigung des Regulators ist zu beachten, daß die durch die Bewegung des Kolbens verursachte Volumverminderung in der Seitenröhre pro $1^0 = a \cdot k$ (a = die Hg-Menge, $k = 0{,}000174$) entspricht, vorausgesetzt, daß der Apparat nur Hg enthält, oder daß $1^0 = a \cdot k + b \cdot k_1$ (a = die ganze Hg-Menge, $k = 0{,}000174$, b = die Toluol- oder Alkoholmenge, $k_1 = 0{,}000109$ für Toluol und 0,000110 für Alkohol) entspricht, falls der Regulator sowohl Hg als Toluol oder Alkohol enthält.

Wird Gas als Wärmequelle benutzt, so erhält der oberste Teil des Regulators die gewöhnliche Gestalt (B).

Wendet man aber Elektrizität als Wärmequelle an (C), so ist es vorteilhaft, einen schwachen Strom durch den Regulator zu leiten, welcher, je nachdem derselbe in a geschlossen oder geöffnet wird, seinerseits den eigentlichen Wärmestrom entweder öffnet oder schließt. Es ist zweckmäßig, oben im Regulator, wo die Kupferleitung mit Hg abwechselnd in Berührung steht und von ihm getrennt wird, Stickstoff zu halten.

So erhält man mit diesem Thermoregulator eine Genauigkeit bis auf $^1/_{10}$ eines Grades, wie mir eine langjährige Erfahrung bestätigt.

Nachdruck verboten.

Ein neuer Käfig für kleine Versuchstiere.

Von Dr. med. **N. Ischlondski**, Berlin.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Bei einem jeden physiologischen Versuch, ganz gleich, welcher Art er sei, muß vor allem die Frage der Pflege der Versuchstiere[1]) zweckmäßig gelöst werden, um dem bekannten Satz gerecht zu werden: Ein physiologisches Experiment hat nur dann einen Wert und Schlußfolgerungen dürfen nur dann aus ihm gezogen werden, wenn der Versuch unter n o r m a l e n Bedingungen verläuft. — Die Vernachlässigung dieses Momentes muß die einwandfreie Entwicklung eines jeden physiologischen Versuches in Frage stellen.

Die Frage der Pflege der Versuchstiere im weiteren Sinne des Wortes umfaßt bekanntlich zwei Kategorien von Lebensbedingungen der Tiere: Die Lebensbedingungen innerhalb des Tierkäfigs und die außerhalb desselben.

Eine vorherrschende Bedeutung erlangen die Lebensbedingungen des Tieres innerhalb des Käfigs. Dieselben sind aber in ganz be-

1) Gemeint sind die kleinen Säugetiere, insbesondere Meerschweinchen und Kaninchen.

sonderem Maße von der Konstruktion des Käfigs abhängig. Die letztere kann nur dann als einwandfrei bezeichnet werden, wenn sie dem Tier einerseits optimale allgemeine Lebensbedingungen, andererseits eine zweckmäßige Fütterung sichert.

Die bisherigen Konstruktionen der Tierkäfige entsprechen den in dieser Hinsicht zu stellenden Forderungen keineswegs.

Das übliche Bild, das man in einem bewohnten Käfig der bisherigen Konstruktion vorfindet, ist wie folgt:

Die kleinen Tiere sitzen stumpf in einer Ecke des Käfigs oder wühlen in der Streu herum. Der Boden des Käfigs ist mit Heu bestreut, das mit den Exkrementen der Tiere vermischt ist. Auf dem Boden liegt hier und da auch anderes Futter, wie Kohlblätter, Rüben usw. Nur der Hafer wird in einem Napf gegeben, der aber von den Tieren leicht umgeworfen wird, so daß auch sein Inhalt mit den Exkrementen

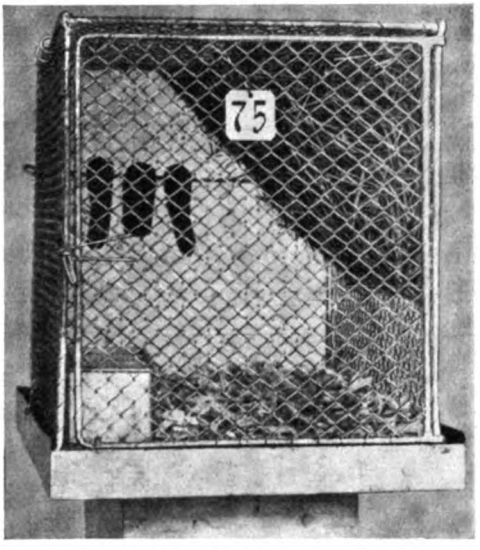


Fig. 1. Vorderansicht des Käfigs.

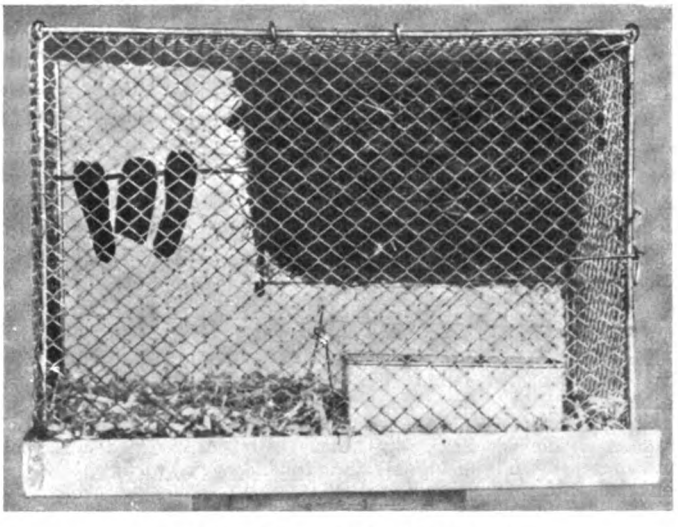


Fig. 2. Seitenansicht des Käfigs.

in Berührung kommt. Die Verwendung des Napfes erweist sich demnach als ziemlich zwecklos. Die Nahrung des Tieres besteht also aus einem Gemisch von Futter und Exkrementen, deren flüssiger

Teil sich in das Heu einsaugt und von hier aus den Käfig dauernd mit Gasen füllt, die das Tier regelmäßig einatmet.

Es versteht sich von selbst, daß unter solchen Bedingungen der normale Verlauf eines tierphysiologischen Versuches stark gefährdet ist.

Es mußte eine solche Konstruktion der Tierkäfige geschaffen werden, die es ermöglichte, all die genannten Mängel leicht zu beheben. Bei einem größeren Tierbestand, wo nur Angehörige einer Familie in einem Käfig leben sollen, und wo also eine sehr große Zahl von Käfigen gebraucht wird, kommt es selbstverständlich auch auf die möglichste Einfachheit bzw. Billigkeit der Konstruktion an.

Auf Grund einer mehr als 10jährigen Erfahrung kann ich den Kollegen folgende Konstruktion eines Tierkäfigs empfehlen, die allen hygienischen Anforderungen gerecht wird und dem Versuchstier normale Lebensbedingungen gewährt. Es sei gleich hervorgehoben, daß der Käfig der hier empfohlenen Konstruktion je nach den Verhältnissen bzw. nach den Ansichten des einzelnen Physiologen in seinen Dimensionen variieren kann. Auch einzelne Vorrichtungen können sich in ihrer Form und Ausführung verschieden gestalten, die Konstruktion bleibt aber die gleiche [1]).

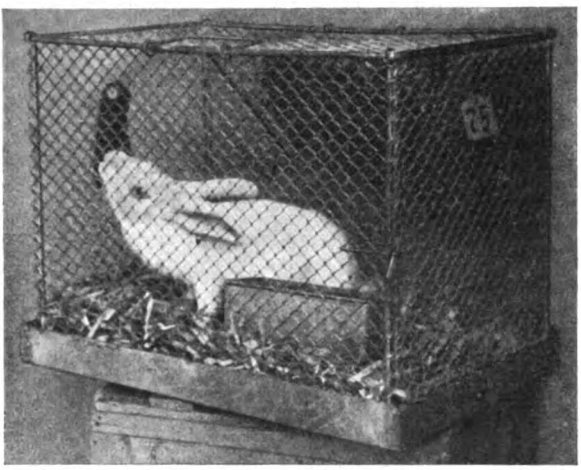


Fig. 3. Ein Tier bei der Nahrungsaufnahme.

In unserem Laboratorium, in dem ich dauernd einen Tierbestand von ca. 100 Familien halte, gebrauchen wir 2 Modelle von Käfigen, wie sie unten beschrieben sind (s. Fig. 1, 2 u. 3). Das erste kleinere Modell ist für Meerschweinchen bestimmt; das zweite größere — für Kaninchen. In der letzten Zeit bestelle ich auch die Käfige für Meerschweinchen, also die kleineren, nach Modell 2.

Modell 1 (kleiner Typ, für Meerschweinchen geeignet).

Der Käfig ist 500 mm lang, 320 mm breit und 340 mm hoch. Das Gestell besteht aus 6 mm starkem Draht; die Wände aus $1^1/_2$ mm starkem, quadratischem Drahtgeflecht von ca. 12 mm Maschenweite; der Boden aus einem Geflecht von ca. 6 mm Maschenweite. Zur Aufnahme der Exkremente dient eine 50 mm hohe Zinkblechwanne, in die der Käfig auf kleinen Streben, die in den Ecken der Wanne, 25 mm über dem Boden angebracht sind, hineingestellt wird, so daß sich zwischen dem Boden des Käfigs und dem der Wanne ein genügend großer Raum ergibt.

Die Wanne wird mittels der am unteren Ende des Käfigs befindlichen Stifte, die in Oesen an der Seitenwand der Wanne geschoben werden, befestigt, so daß sie zwecks Reinigung leicht abgenommen werden kann [2]).

1) Die Käfige D.R.G.M. können von der Firma E. Leitz, Berlin NW. 6, Luisenstr. 45, bezogen werden.

2) Die Reinigung geschieht einmal wöchentlich, wobei die Käfige gründlich gewaschen werden und die Streu (Holzwolle) ausgewechselt wird.

Die Decke bildet gleichzeitig die Tür des Käfigs. Sie wird mittels eines Drahtstöpsels, der an einer Kette hängt und durch eine Oese geschoben wird, geschlossen.

Fütterungseinrichtung: Das Heu befindet sich in einer Raufe, die in der hinteren Hälfte des Käfigs angebracht ist. Die Raufe besteht aus sechseckigem, 1—1¼zölligem bzw. entsprechendem viereckigen Drahtgeflecht und verläuft von der oberen Wand schräg nach unten, bis etwa 100 mm über dem Boden.

Körnerfrüchte, flüssige Nahrung usw. werden in einem Blechnapf gereicht, welcher mittels eines Drahtringes resp. eines Hakens am Geflecht befestigt wird.

Rüben, Kohlblätter usw. werden auf einem verzinkten resp. vernickelten Draht von ca. 3 mm Stärke gesteckt, der quer durch den Käfig läuft, von einer Längs- zu einer Querseite und der gegen das Herausrutschen auf der einen Seite durch eine Oese, auf der anderen durch einen Gummistopfen gesichert ist. Der Draht kann je nach der Größe bzw. dem Alter der Tiere in jeder beliebigen Höhe angebracht werden.

Modell II (Großer Typ, besonders für Kaninchen geeignet).

Der Käfig besteht aus demselben Drahtgeflecht wie Modell I, nur ist er größer, und zwar 700 mm lang, 520 mm hoch und 450 mm breit. Dementsprechend ist das Gestell aus 8 mm starkem Draht angefertigt. Außerdem befindet sich die Tür nicht oben, sondern vorn und wird seitlich geöffnet. Der Verschluß ist der gleiche wie bei Modell I.

Der Lage der Tür entsprechend ist die Raufe an der Seitenwand angebracht, so daß sie von vorn zugänglich ist. Sie verläuft von der Tür bis zur Mitte des Käfigs und von oben schräg nach unten und endet etwa 180 mm über dem Boden. Somit können auch bei dieser Konstruktion die Tiere nicht in das Innere der Raufe gelangen.

Die anderen Fütterungseinrichtungen sind die gleichen wie bei Modell I, ebenso die Wanne, nur ist die Vorderwand derselben ausgeschnitten, damit die Tür ungehindert geöffnet werden kann.

Die großen Vorteile dieser Konstruktion bestehen: 1) in der Billigkeit der Herstellung. — 2) In der außerordentlichen Reinlichkeit. Das Futter kommt mit den Exkrementen des Tieres nicht in Berührung. Es wird dem Tier in reinstem Zustand zugeführt, indem es nur allmählich, dem Bedarf des Tieres entsprechend, aus den Fütterungsvorrichtungen genommen wird. Dieser Umstand gewinnt für den biologischen Versuch eine ganz außergewöhnliche Bedeutung. Da dem Tier die optimalen hygienischen Lebensbedingungen geboten worden, wird der Verlauf des Versuches von den sonst sehr zahlreichen Uebelständen, die mit der unzweckmäßigen Fütterung bzw. allgemeinen Pflege der Tiere untrennbar verknüpft sind, unabhängig gemacht. Es sei hervorgehoben, daß in diesen Käfigen Holzwolle als Streu dient, die den großen Vorteil bietet, daß sie nicht freßbar ist. Somit kann die gesamte Nahrung nur den Fütterungseinrichtungen entnommen werden. Außerdem besitzt die Holzwolle eine außerordentlich gute Durchlässigkeit und ist schließlich auch sehr billig. — 3) In der Möglichkeit eines quantitativen Ueberblickes einerseits über den Verbrauch des Tieres an Nahrung, was von großer Bedeutung speziell für Entwicklungs- und Stoffwechselversuche aller Art ist; andererseits über die rein wirtschaftliche Seite des gesamten Haushaltes des Tierbestandes, was die Möglichkeit gewährt, die Ausgaben in jedem einzelnen Fall, bzw. bei einer jeden beliebigen Zahl von Tieren und für jede beliebige Zeit genau zu berechnen. — 4) In der Verringerung der mit der Pflege der Tiere verbundenen Unkosten, da das Futter ohne den geringsten Verlust ausgenutzt wird, wogegen bei der üblichen Konstruktion ein beträchtlicher Teil des Futters bei der Reinigung der Käfige unvermeidlich verloren geht. — 5) Schließlich in der großen Bedeutung der Fütterungseinrichtungen für die allgemeine physische und psychische Entwicklung der Tiere. Die zahlreichen und verschiedenen Bewegungen,

die das Tier beim Fütterungsakt auszuführen pflegt, die verschiedenen Stellungen, die es hier beim Herausziehen von Heu durch die Maschen der Raufe, da beim Benagen der Rüben, Blätter usw., einnimmt, verleihen ihm große Geschicklichkeit. Sie stellen eine Art von sich regelmäßig wiederholender Gymnastik dar, die dem Tier in der Gefangenschaft eine gewisse Bewegung bietet, die ihm die natürliche Bewegungsfreiheit großenteils ersetzt. Es ist bemerkenswert, daß auch die allgemeine Sterblichkeit, die sonst bei den kleineren Versuchstieren ziemlich groß ist, durch die neuartige Pflege der Tiere auf ein Minimum, ja auf Null reduziert werden kann.

Auch für die psychische Entwicklung des Tieres sind die neuartigen Fütterungseinrichtungen von größter Bedeutung. Nach Ablauf von einigen Monaten stellt sich die Psyche der Tiere ganz um und wird mehr auf die Außenwelt gerichtet. Die früher stumpfen Tiere werden viel neugieriger und lebhafter, wie dies auch der natürlichen Lebensweise entspricht. Die Wiederherstellung der natürlichen Lebensbedingungen sowohl in physischer als auch in psychischer Hinsicht gewinnt für den Physiologen eine prinzipielle Bedeutung, da Schlußfolgerungen aus einem Versuch nur dann exakt gezogen werden können, wenn der Versuch unter ganz normalen Bedingungen verläuft. Die große Bedeutung dieser natürlichen Lebensbedingungen für tierpsychologische Studien liegt auf der Hand.

Inhalt.

Demjanow, G. S., Ueber die Appendicitis malarica. Mit 1 Abbildung im Text, S. 348.

Dimitrijevic-Speth, Vojin, Eine spezielle physikalische Anreicherungsmethode für B. paratyphi „B", S. 289.

Fernbach, Hans, u. **Hepner, Franz,** Weitere Untersuchungen zur Frage der Antikörperbildung in der Haut. Mit 6 Kurven im Text, S. 358.

Hackenthal, Hermann, Ueberempfindlichkeitsversuche am Meerschweinchen. Mit 3 Kurven im Text, S. 371.

Herrmann, Otto, Die Ursachen der antirabischen Paralysen (experimentelle und klinische Beobachtungen). II. Mitteilung, S. 320.

—, Die Ursachen der antirabischen Paralysen. III. Mitteilung, S. 334.

Hees, Hermann, u. **Tropp, Caspar,** Vergärung substituierter Kohlehydrate durch Bakterien der Coli- und Lactis aërogenes-Gruppe. Mit 1 Tafel, S. 273.

Hoeltzer, R., u. **Zabolotzkaja, T.,** Vergleichendes Studium der Kultivierungsmethoden der Spirochaeta Obermeieri, S. 306.

Ischlondski, N., Ein neuer Käfig für kleine Versuchstiere. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 388.

Jacobsohn, I., u. **Koref, O.,** Zur Frage der Kaninchenbrustseuche und deren Prophylaxe, S. 353.

Kahan, J. N., u. **Seidenberg, L. L.,** Vermehren sich Tuberkelbazillen in dem nach J. Schiller bearbeiteten Sputum? S. 301.

Kraus, R., Geschichtliches zum Aufsatze E. Friedbergers in diesem Centralblatt Bd. 99. Heft 1/3 über kryptantigenes Virus, S. 378.

Krohn, Väinö, Ein verbesserter Thermoregulator Mit 1 Abbildung im Text, S. 387.

Mayser, Hans, Bakteriologische und serologische Untersuchungen an Paratyphusstämmen, die aus den Kranken zweier Trinkwasserepidemien gezüchtet wurden, S. 285.

Minervin, S, u. **Schmerling, A.,** Die Kultur des testikulären Pockengewebes, S. 310

Morosow, M. A., Die Färbung der Paschenschen Körperchen durch Versilberung. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 385.

Rosen, P. S., Wagner-Sacharowa, M. P., u. **Sobolewa, L. S.,** Ueber Anreicherungsmethoden für die Typhus- und Paratyphus-Bazillengruppe, S. 293.

Rybinsky, S. B., To the analysis of the malarian curve in Kiev. With two curves in the text, S. 316.

Schwarz, Peter, Ein leicht improvisierbarer Apparat zur Entnahme größerer Blutmengen. Mit 1 Abbildung im Text, S. 384.

Wikullil, Leo v., Zur Bestimmung der Keimzahl bakterieller Impfstoffe. Mit 1 Abbildung und 1 Kurve im Text, S. 379.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5547

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 100 enthaltenen Arbeiten.

Demjanow, G. S., Ueber die Appendicitis malarica. 348

Dimitrijevic-Speth, Vojin, Eine spezielle physikalische Anreicherungsmethode für B. paratyphi „B". 289

Fernbach, Hans, u. **Hepner, Franz,** Weitere Untersuchungen zur Frage der Antikörperbildung in der Haut. 358

Fischer, Heinrich, u. **Kliewe, H.,** Zur Wirkung der Kastration auf Infektionsfähigkeit und Antikörperbildung beim Tier. 161

Franz, Ilse, Zur Frage der Herstellung von Vakzinen mit Chin. bisulf.-Lösung. 270

Frohböse, H., Beitrag zum biochemischen Verhalten der bipolaren Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. 213

Goerttler, V., Versuche über die abtötende Wirkung des Aetzkalkes gegenüber Milzbrandkeimen mit besonderer Berücksichtigung der Gärbereiabgänge. 195

Gutstein, M., Das Ektoplasma der Bakterien. 5. Mitteilung: Färberischer Nachweis und chemischer Bau des Ektoplasmas der gramnegativen Bakterien. 1

Hackenthal, Hermann, Ueberempfindlichkeitsversuche am Meerschweinchen. 371

Hees, Hermann, u. **Tropp, Caspar,** Vergärung substituierter Kohlehydrate durch Bakterien der Coli- und Lactis aërogenes-Gruppe. 273

Heim, Ludwig, u. **Schlirf, Karl,** Was ist es mit der Einheit der Streptokokken? Eine zeitgemäße Frage. 24

Hepner, Franz s. **Fernbach, Hans.**

Herrman, Otto, Die Ursachen der antirabischen Paralysen (experimentelle und klinische Beobachtungen). I. Mitteilung. 178

—, Die Ursachen der antirabischen Paralysen (experimentelle und klinische Beobachtungen). II. Mitteilung. 320

—. Die Ursachen der antirabischen Paralysen. III. Mitteilung. 334

Hoeltzer, R., u. **Zabolotzkaje, T.,** Vergleichendes Studium der Kultivierungsmethoden der Spirochaeta Obermeieri. 306

Isabolinsky, M., u. **Tschernischoff, S.,** Zur Frage der Serumtherapie des Scharlachs. 21

Ischlondsky, N., Ein neuer Käfig für kleine Versuchstiere. 388

Issaitschikow, J. M., Zur Diagnose der Trematodengattung Tanaisia Scrj. 89

Jacobsohn, I., u. **Koref, O.,** Zur Frage der Kaninchenbrustseuche und deren Prophylaxe. 353

Jermoljewa, S., Vibrio phosphorescens beim klinischen Bilde der Cholera und sein Zusammenhang mit anderen Vibrionen. 170

Kabelík, J., Bemerkungen zu Klopstocks Artikel: „Ueber die Komplementwirkung des Blutplasmas". 95

Kahan, J. N., u. **Seidenberg, L. L.,** Vermehren sich Tuberkelbazillen in dem nach J. Schiller bearbeiteten Sputum? 301

Kliewe, H. s. **Fischer, Heinrich.**

Klopstock, Felix, Ambozeptoren. 90

Koch, Jos., Untersuchungen über das Zellenbild des spontanen Mäusekrebses, mit Bemerkungen über die Entstehung des Krebses. III. 75

Kollath, Werner, Vitaminsubstanz oder Vitaminwirkung? 97

Koref, O. s. **Jacobsohn, I.**

Kraus, R., Geschichtliches zum Aufsatze E. Friedbergers in diesem Centralblatt Bd. 99. Heft 1/3 über kryptantigenes Virus. 378

Krohn, Väinö, Ein verbesserter Thermoregulator. 387

Leonhardt, Ueber Gastroenteritis paratyphosa. 168

Linden, Gräfin v., Ueber Nematoden aus Grassamen und ihre Bedeutung für die Entwicklung der Lungenwürmer. Bemerkungen zu v. Schuckmanns Mitteilungen in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft. Sitzung vom 18. Jan. 1926. 88

Van Loghem, J. J., Bakteriophage und hämolytisches Endotoxin des Cholera-Vibrio. 19

Mayer, Georg, Einfacher Tuberkelbazillennachweis. 10

Mayser, Hans, Bakteriologische und serologische Untersuchungen an Paratyphusstämmen, die aus den Kranken zweier Trinkwasserepidemien gezüchtet wurden. 285

Meißner, Gertrud, Beitrag zur Frage der Herstellung hochwertiger, spezifischer präzipitierender Sera für forensische Zwecke. 258

Minervin, S., u. **Schmerling, A.**, Die Kultur des testikulären Pockengewebes. 310

Möhrke, W., Kritische Bemerkungen zum Problem der Identität der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebaz., sowie einige experimentelle Untersuchungen zu dieser Frage. 145

Morosow, M. A., Die Färbung der Paschenschen Körperchen durch Versilberung. 385

Rosen, P. S., Wagner-Sacharowa, M. P., u. **Sobolewa, L. S.**, Ueber Anreicherungsmethoden für die Typhus- und Paratyphus-Bazillengruppe. 293

Rudolf, Johann, Ueber das Verhalten verschiedener tierischer Streptokokken in Lackmusmilch unter besonderer Berücksichtigung des Streptococcus mastitidis und Streptococcus lacticus. 47

Rukawischnikoff, E., Zur Biologie des B. fusiformis und der Spirochaete Vincenti. 218

Rybinsky, S. B., To the analysis of the malarian curve in Kiev. 316

Schlirf, Karl s. **Heim, Ludwig.**

Schmerling, A. s. **Minervin, S.**

Schwarz, Peter, Ein leicht improvisierbarer Apparat zur Entnahme größerer Blutmengen. 384

Seidenberg, L. L. s. **Kahan, J. N.**

Sobolewa, L. S. s. **Rosen, P. S.**

Sonnenschein, Curt, Atypische Wuchsformen von Bakterien als Krankheitserreger. Mucosus-Form von B. paratyphi im Blut eines Paratyphuskranken. 11

Tropp, Caspar s. **Hees, Hermann.**

Tschernischoff, S. s. **Isabolinsky, M.**

Wagner-Sacharowa, M. P. s. **Rosen, P. S.**

Went, Stefan, Ueber Morphologie, Biologie und pathologische Bedeutung des sog. „Enterokokkus". 62

Wikullil, Leo v., Zur Bestimmung der Keimzahl bakterieller Impfstoffe. 379

Yakimoff, W. L., Piroplasmosis (Babesiellosis, red water) of the cattle in the north-west of Russia. 224

Zabolotzkaje, T. s. **Hoeltzer, R.**

II. Sachverzeichnis.

Aetzkalk, Wirkung auf Milzbrandbazillen. 195
Ambozeptoren. 90
Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
Antikörperbildung in der Haut. 358
Antikörperbildung, Wirkung der Kastration auf dieselbe. 161
Apparat zur Blutentnahme. 384
Appendicitis, malarica. 348

Babesiellosis s. Piroplasmose.
Bac. coli, Vergärung substituierter Kohlehydrate. 273
— enteritidis Breslau. 168
— fusiformis, Biologie desselben. 219
— lactis aërogenes, Vergärung substituierter Kohlehydrate. 273
— paratyphi .B, Anreicherungsmethode. 389, 293
— — B, Mucosus-Form desselben im Blut. 11
— — B, Ursache einer Wasserepidemie. 273
— typhi, Anreicherungsmethode. 293
Bakterien, bipolare, der hämorrhagischen Septikämie. 213
—, Ektoplasma derselben. 1
—, unsichtbare Formen derselben. 378
Bakterienimpfstoffe, Bestimmung der Keimzahl. 379
—, Chinin. bisulf. zur Herstellung derselben. 270
Bakteriophage des Choleravibrio. 19
Blutentnahme, Apparat für dieselbe. 384
Blutplasma, Komplementwirkung desselben. 95
Brustseuche der Kaninchen. 353

Chininum bisulf. zur Herstellung von Bakterienimpfstoffen. 270
Cholera, Vibrio phosphorescens bei derselben. 170
Choleravibrio, Bakteriophage desselben. 19
—, Endotorin, hämolytisches, desselben. 19

Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen, Problem der Identität. 145

Ektoplasma der Bakterien. 1
Endotoxin, hämolytisches, des Choleravibrio. 19
Enterokokken, Biologie. 62
—, Morphologie. 62
—, pathologische Bedeutung. 62

Gastroenteritis paratyphosa. 168
Gerbereiabgänge, Abtötung von Milzbrandkeimen. 195

Haut, Antikörperbildung in derselben. 358

Impfstoffe, bakterielle s. Bakterienimpfstoffe.
Infektionsfähigkeit, Wirkung der Kastration auf dieselbe. 161
Influenzabazillen, Biologie derselben. 97

Käfig für kleine Versuchstiere. 388
Kaninchenbrustseuche. 353
Karzinom s. Krebs.
Kastration, Wirkung auf Antikörperbildung. 161
—, Wirkung auf Infektionsfähigkeit. 161
Kohlehydrate, substituierte, Vergärung durch B. coli u. B. lactis aërogenes. 273
Komplementwirkung des Blutplasmas. 95
Krebs, Entstehung desselben. 75
—, Mäuse-, Zellenbild des spontanen. 75

Lungenwürmer, Entwicklung derselben. 88

Mäusekrebs s. Krebs, Mäuse-.
Malaria, Appendicitis bei derselben. 348
— in Kiew. 316
Milzbrandbazillen, Wirkung des Aetzkalkes auf dieselben. 195
Mucosus-Form des Bac. paratyphi B. 11

Nematoden aus Grassamen. 88

Paschensche Körperchen, Färbung derselben durch Versilberung. 385

Piroplasmose des Rindes in Nordwest-Rußland. 224
Pocken, Kultur im Hodengewebe. 310
—, Paschensche Körperchen. 385
Präzipitation, Herstellung hochwertiger Sera. 258
Pseudodiphtherie- und Diphtheriebazillen, Problem der Identität. 145

Red water s. Piroplasmose.
Rückfallfieber, Kultur des Erregers. 306

Scharlach, Serumtherapie. 21
Septikämie, hämorrhagische Bakterien derselben. 213
Serum, präzipitierendes, Herstellung desselben. 258
Spirochaeta Obermeieri, Kulturverfahren. 306
— Vincenti, Biologie derselben. 219
Streptococcus lacticus, Verhalten in Lackmusmilch. 47
— mastitidis, Verhalten in Lackmusmilch. 47
Streptokokken, Einheit derselben. 24
—, tierische, Verhalten in Lackmusmilch. 47

Tanaisia Scrj., Diagnose 89
Thermoregulator. 387
Tuberkelbazillen, Nachweis derselben. 10
—, Vermehrung im Sputum. 301

Ueberempfindlichkeitsversuche am Meerschweinchen. 371

Vakzine s. Bakterienimpfstoff.
Versuchstiere, Käfig für dieselben. 388
Vibro phosphorescens bei Cholera. 170
Virus, kryptantigenes. 378
Vitamine, Einfluß auf Influenzabazillen. 97

Wasserepidemie durch Bac. paratyphi B. 273
Wutschutzimpfung, Paralysen nach derselben. 178, 320, 334

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Appendicitis malarica. 352
Bac. paratyphi B, Mucosus-Form aus dem Blute eines Paratyphuskranken. (Taf.) 18, 19
Bakterienimpfstoffe, Keimzahlbestimmung. 380, 381
Blutentnahme, Apparat für dieselbe. 384
Ektoplasma der Bakterien. (Taf.). 9
Gastroenteritis paratyphosa. (Taf.). 170
Influenzabazillenwachstum und Vitamine. (Taf. I—VI.). 102, 132, 133, 144, 145
Käfig für kleine Versuchstiere. 389, 390
Kohlehydrate, Vergärung durch B. coli und B. lactis aërogenes. 284
Mäusekrebs, spontaner, Zellenbild desselben. (Taf. I—III.). 86, 87, 88
Paschensche Körperchen, Färbung durch Versilberung. 386
Streptokokken, Einheit derselben. (Taf. I, II.). 46, 47
—, tierische, Verhalten in Lackmusmilch. (Taf.). 61
Thermoregulator, verbesserter. 387

589.05 Cent.-Hyg.
CE
per. 2a
V. 100
NO. 7-8

Centralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung: Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat, Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat, Königsberg i. Pr.
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat, Breslau

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Bamberg, Kunigundendamm 61 II
Präsident Dr. A. Weber, Dresden-N. 6, Wilhelmplatz 4 II

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ob.-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde W, Victoriastr. 7

Verlag von Gustav Fischer in Jena

100. Band — Jena, 26. November 1926 — Heft 7/8

— Jeder Band umfaßt 8 Hefte, die in zwangloser Folge erscheinen. —

JAN 5 1927
THE LIBRARY OF THE
JAN 3 1927
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Wassermannsche Reaktion und Ausflockungsreaktionen

einschließlich der Trübungsreaktionen im Lichte neuerer Forschung

Experimentelle Untersuchungen

von

Privatdoz. Dr. med. **Walter Weisbach**, Halle

Zweite, neubearbeitete und vermehrte Auflage

Mit 2 Abbildungen im Text. VI, 82 S. gr. 8° 1924 Rmk 3.—

Inhalt: 1. Die historische Entwicklung der serologischen Methoden zum Nachweis der Syphilis. 2. a) Eigene Versuche zur Klärung der Frage nach dem Mechanismus der Methoden von Wassermann, Meinicke und v. Sachs und Georgi: Untersuchungen des Patientenserums. Untersuchungen der Organextrakte. b) Kritische Auswertung der Untersuchungsergebnisse unter Berücksichtigung der publizierten Ergebnisse aus der praktischen Anwendung der Methoden. c) Kritische Besprechungen fremder neuerer und neuester Untersuchungsergebnisse und der aus diesen gezogenen Folgerungen. 3. Die durch den Mechanismus der einzelnen Reaktionen bedingte Grenze ihrer Leistungsfähigkeit und deren klinische Bedeutung. 4. Zusammenfassung. Autorenverzeichnis. Literaturnachweis.

ZEISS

Bakterien-Mikroskop

„MINERVIEN" ESA 95

mit dem *neuen E*-Stativ

Stabiles Instrument mit großer Ausladung
Moderne Form

Neuer Leuchtbildkondensor
für Dunkelfeld

Für Ausstrichpräparate (nicht für wässerige Präparate) bei voller Apertur aller Mikroobjektive bis zur num. Ap. 1.30 einschl.

Dunkelfeld-Einrichtungen

für *lebende* Bakterien und *wässerige* Lösungen mit dem Kardioid- und Wechselkondensor

Druckschriften kostenfrei

Mikroskop E S A 95
Tel.-W.: *Minervien* Preis: RM 395.—

CARL ZEISS JENA · CARL ZEISS JENA

SEITZ-WERKE
G M B H

SERUM-
›ENTKEIMUNG‹

DIE
SEITZ'SCHEN „EK" FILTER
(ENTKEIMUNGS-FILTER)

sind für serologische Laboratoriumsarbeiten und für die fabrikmäßige Serumgewinnung unerreicht und unentbehrlich.
Prospekte und Literatur kostenfrei!

KREUZNACH RHEIN LAND

Leitz

monokulare und binokulare

Mikroskope

Bizentrische Dunkelfeldkondensoren

num. Ap. 1.20

Mikroaufsatzkamera „Makam"

für Plattengröße $4^1/_2 \times 6$ cm und 9×12 cm

Mikrotome :: Zeichenokulare - Zeichenapparate

Nebenapparate

für Untersuchungen im polarisierten und auffallenden Licht

Liste Nr. 481 kostenlos

Ernst Leitz / Optische Werke / Wetzlar

Meerschweinchen, Kaninchen, bunte Ratten, weiße Mäuse, Frösche

liefert jeden Posten

A. Seyer, Berlin N. 54, Ackerstraße 19

Export. — Import.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Die Bakteriophagie

vornehmlich auf Grund eigener Untersuchungen

Von

Dr. **Hugo v. Preisz**

o. ö. Professor an der Universität Budapest

Mit 36 Abbildungen auf 3 Tafeln

IV, 110 S. gr. 8° 1925 Rmk 6.—

Inhalt: 1. Vorbemerkungen. 2. Bakteriologische Erscheinungen an lebenden Kolonien. 3. Bakteriophagische Kolonien und Bakterien im gefärbten Präparat. 4. Sonstige Erscheinungsformen der Bakteriophagie. 5. Ueber das Phagenfest- und Phagenloswerden von Bakterien. 6. Beginn und Ausbreitung des Phänomens. 7. Die Löcher (taches vierges) im Bakterienrasen. 8. Der Tropfversuch. 9. Löcher und phagenhaltige Punkte im Bakterienrasen. 10. Genaueres Verfahren zum Nachweis des Bakteriophagen. 11, Ueber das Wesen der Bakteriophagie. 12. Ueber die sogenannte Titrierung phagenhaltiger Flüssigkeiten. 13. Ueber einige physikalische und sonstige Eigenschaften des bakteriophagen Agens. 14. Was ist das bakteriophage Agens? — Literatur.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Serologische Untersuchungstechnik

Von

Dr. med. et phil. **Johann Hammerschmidt**
ao. Prof. der Hygiene an der Universität Graz

Vollständige Neubearbeitung von P. Th. Müller
„Technik der serodiagnostischen Methoden"

Mit 26 Abbildungen im Text

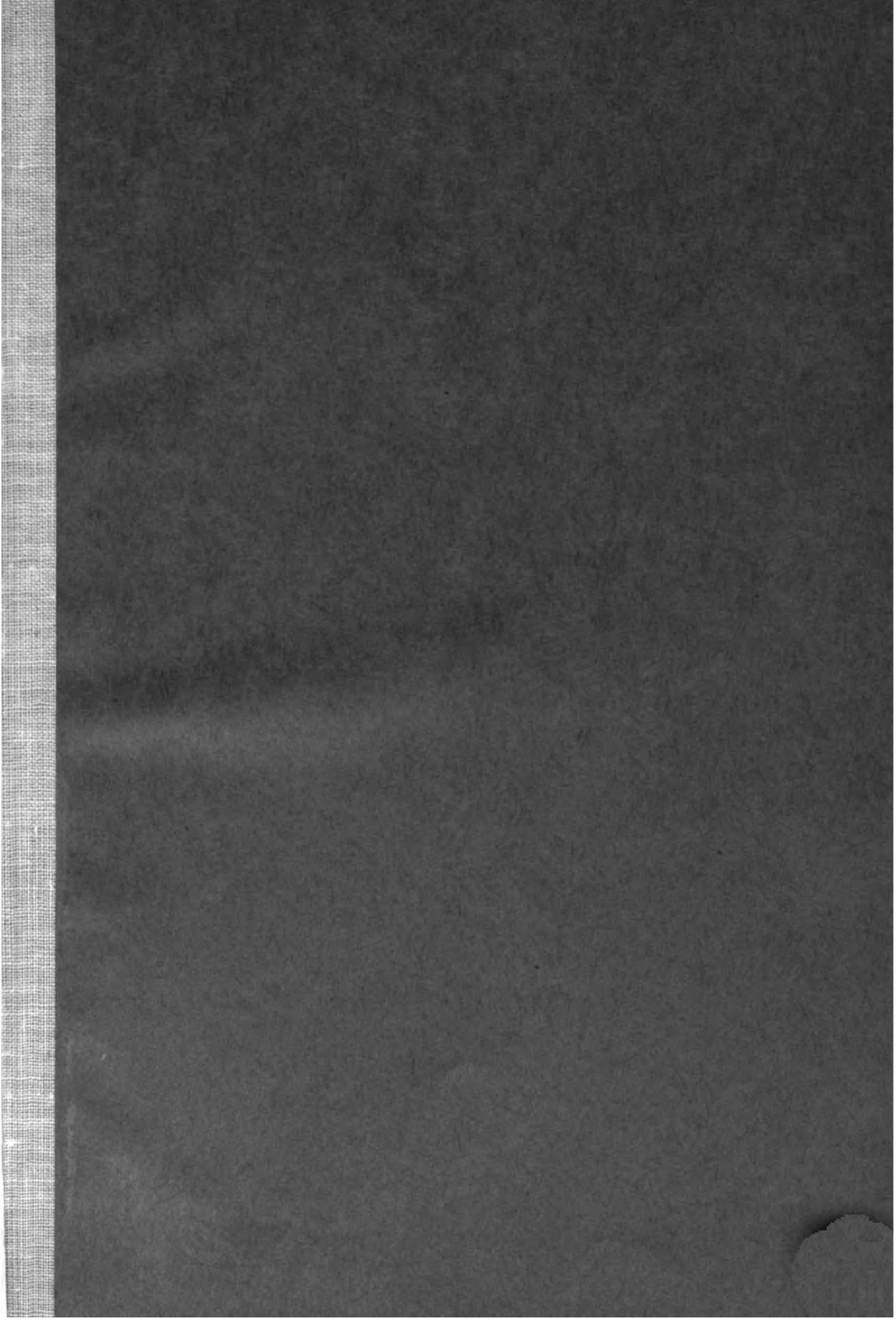
VI, 195 S. kl. 8° 1926 Rmk 4.—, geb. 5.—

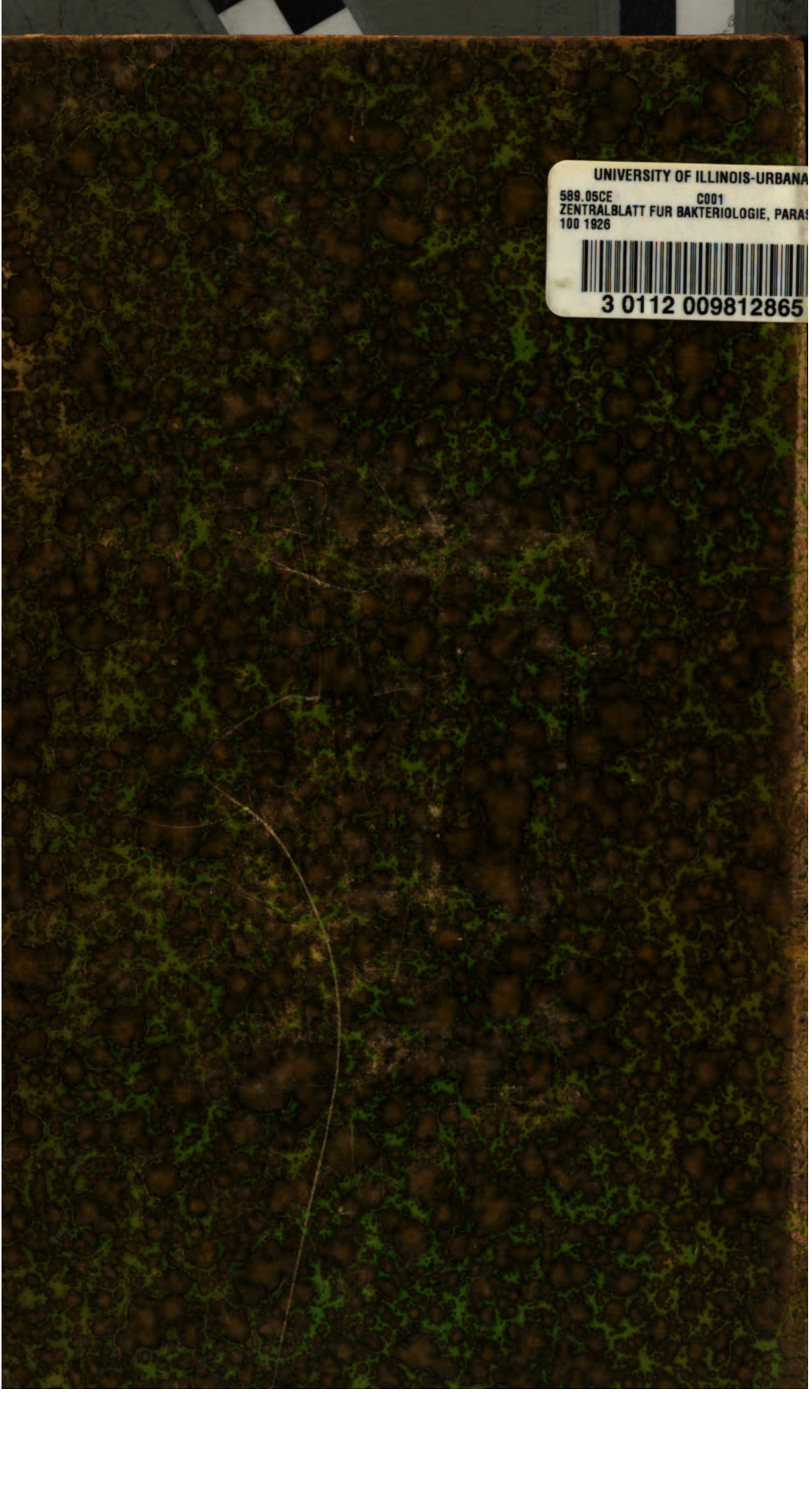
Inhalt: I. Nachweis und Auswertung von Antitoxin. 1. Auswertung eines Serums auf den Gehalt von Antitoxin. 2. Reaktion zum Nachweis des Vorhandenseins von Diphtherieantitoxin (Schicksche Reaktion). 3. Antitoxinauswertung in vitro. — II. Präzipitinreaktionen. 1. Nachweis von Eiweißkörpern fraglicher Herkunft. 2. Nachweis von Fleischverfälschungen. 3. Thermopräzipitation. — III. Flockungsreaktionen. 1. Zum Luesnachweis (Sachs-Georgi, Bruck, Meinicke). 2. Flockungs-Trübungsreaktionen bei malignen Tumoren (Kahn). 3. Globulinfällungsreaktion bei Tuberkulose (Mátéfy). — IV. Agglutinationsreaktionen. 1. Zur Diagnose eines fraglichen Bakterienstammes. 2. Nachweis von Agglutininen im Krankenserum (Widal). 3. Absättigungsversuch (Castellani). 4. Hämagglutination. — V. Nachweis von bakteriziden Substanzen. 1. Feststellung durch Bakteriolyse im Tierkörper (Pfeiffers Versuch). 2. Feststellung durch Bakteriolyse in vitro (Neißer und Wechsberg). — VI. Phagozytäre Reaktionen. 1. Bestimmung der opsonischen Kraft (Wright). 2. Bestimmung des Gehaltes an Bakteriotropinen. — VII. Nachweis von Hämolysinen. 1. Auswertung eines Ambozeptors. 2. Auswertung des Komplementgehaltes eines Serums. — VIII. Komplementablenkung. 1. Feststellung einer Bakterien- oder Eiweißart. 2. Nachweis aktiver Tuberkulose (v. Wassermann). 3. Wassermannsche Reaktion zum Luesnachweis. — IX. Untersuchung des Liquor cerebrospinalis. 1. Physikalisches Verhalten. 2. Zytologisches Verhalten. 3. Eiweißbestimmungen. 4. Kolloidreaktionen. 5. Serologische Reaktionen. — X. Verschiedene Reaktionen. 1. Blutkörperchensenkungsreaktion. 2. Nachweis trypanozider Substanzen. 3. Bestimmung des antitryptischen Titers. 4. Feststellung des peptolytischen Index. 5. Meiostagminreaktion zur Diagnose bösartiger Geschwülste. — XI. Technik der Injektion, Blutentnahme und Serumkonservierung. 1. Technik der Injektion. 2. Technik der Blutentnahme. 3. Gewinnung und Konservierung des Serums. — Anhang: Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.

Vorliegendes Buch soll für den Ungeübten eine Anleitung, für den Geübten ein Nachschlagebehelf bei serologischen Arbeiten sein. Die Anleitung, der durchweg eigene Erfahrungen zugrunde gelegt sind, ist in dem Bestreben verfaßt, durch möglichst einfache, aber doch vollständige Angaben den Erfolg zu verbürgen. Bei der Auswahl der zu beschreibenden Reaktionen hat der Verf. vor allem jene Untersuchungsmethoden berücksichtigt, die sich einerseits zu diagnostisch-praktischen, andererseits zu rein wissenschaftlichen Zwecken eingebürgert haben; daneben sind einige andere Methoden jüngeren Ursprungs behandelt, die zumindest theoretisch von Bedeutung erschienen, wenn auch ihr praktischer Wert noch zweifelhaft ist. Die Liquorreaktionen wurden entsprechend ihrer heutigen ausgedehnten Anwendung in die Besprechung einbezogen, obwohl nur ein geringer Teil von ihnen als serologische Reaktionen zu bezeichnen sind.

Berichte über die ges. Biologie. Abt. B: Physiologie. Bd. 36, Heft 13/14: Eine sehr gute Zusammenstellung der gebräuchlichsten serologischen Untersuchungsmethoden und einiger Grenzmethoden. Man kann nach den prägnanten Angaben ohne weiteres praktisch arbeiten. Die Auswahl der Methoden ist zweckentsprechend. . . .
Seligmann, Berlin.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.




UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARAS
100 1926
3 0112 009812865